



Joana Carina da Silva Pereira

Licenciada em Ciências de Engenharia Biomédica

Avaliação do tratamento de frutas e vegetais por radiação ionizante para grupos de risco

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Biomédica

Orientador: Doutora Sandra Cabo Verde, Campus
Tecnológico e Nuclear / Instituto Superior Técnico

Co-orientador: Professor Doutor João Cruz, Faculdade
de Ciências e Tecnologia

Presidente: Professor Doutor Mário António Basto Forjaz Secca

Arguente: Professora Doutora Maria Adelaide de Almeida Pedro
de Jesus

Vogais: Doutora Sandra Cabo Verde
Professor Doutor João Cruz



FAÇULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

[Outubro de 2012]

Avaliação do tratamento de frutas e vegetais por radiação ionizante para grupos de risco

Orientador: Doutora Sandra Cabo Verde

Co-Orientador: Professor Doutor João Cruz

Dissertação apresentada na Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa para complementar os requerimentos para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Biomédica

Departamento de Física

Faculdade de Ciências e Tecnologia,
Universidade Nova de Lisboa

Outubro 2012

Avaliação do tratamento de frutas e vegetais por radiação ionizante para grupos de risco

Copyright© 2012 – Todos os direitos reservados. Joana Carina da Silva Pereira.
Faculdade de Ciências e Tecnologia. Universidade Nova de Lisboa.

A faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Aos meus pais,
José de Sousa Pereira
Maria Clara da Silva de Oliveira de Sousa

Agradecimentos

Os meus sinceros agradecimentos,

À Dra. Sandra Cabo Verde, minha orientadora, por todas as explicações, ensinamentos, disponibilidade e apoio ao longo de todo o decorrer do trabalho.

Ao Professor Dr. João Cruz por toda a sua disponibilidade demonstrada para qualquer ajuda necessária.

À Dra. Luísa Botelho, pela oportunidade que me deu em realizar este trabalho com toda a sua equipa fantástica.

A todas as pessoas do LETAL por toda a ajuda ao longo do decorrer do trabalho: Joana Madureira, Rita Melo, Helena Marcos, Cássia Junqueira e um especial agradecimento à minha parceira Marina Oliveira, “a sensível”, e à Telma Silva por todas as ajudas e carinho demonstrado, tudo “very nice”.

Ao Instituto Politécnico de Santarém/ Escola Superior Agrária, especialmente à Mestre Maria Gabriela Lima, pela oportunidade e disponibilidade na realização de todos os testes.

A todos os meus amigos e companheiros de faculdade, por toda a paciência em explicações e ajudas que me prestaram com especial atenção ao meu amigo Mário João por ter sido um grande suporte nesta etapa tão importante. São todos “as minhas princesas”.

A todos os meus amigos por me terem sempre proporcionado bons momentos de descontração e por terem tido sempre uma palavra amiga quando mais precisei.

Ao Diogo e à Sara por serem os melhores amigos do mundo. Obrigada por estes 13 anos perfeitos.

Ao Leonel por todo o amor incondicional, palavras de incentivo e todo o carinho ao longo destes últimos anos. Ao pé de ti tudo foi mais fácil.

Por fim, a toda a minha família, pelo apoio demonstrado. Em especial aos meus pais por todo o seu esforço e empenho em toda a minha formação. Obrigada pela paciência e por todas as oportunidades que me proporcionaram ao longo da vida. A vocês agradeço tudo o que sou hoje.

Resumo

As radiações ionizantes são aplicadas nas mais diversas áreas como na área alimentar. A irradiação de alimentos é um processo não-térmico que visa a exposição do alimento a raios X, gama ou feixe de electrões com o objectivo principal de descontaminar o alimento e aumentar o seu tempo de prateleira. A utilização deste processo permite tratar os alimentos nas suas embalagens finais prevenindo a sua contaminação após irradiação. Assim, o alimento fica seguro, apresentando as mesmas características a nível nutricional que o alimento sem tratamento.

Os imunocomprometidos são pacientes sujeitos a diversas restrições alimentares, nomeadamente frutas e vegetais, devido ao seu sistema imunitário debilitado, afectando por vezes não só o seu estado de espírito como também a sua qualidade de vida. Os alimentos irradiados podem ser inseridos nas suas refeições pois estão livres de contaminação, não apresentando risco de infecção e aumentando a variabilidade dos alimentos disponibilizados.

O objectivo da presente dissertação foi a avaliação do tratamento por radiação gama em alimentos para uma possível implementação dos alimentos irradiados nas refeições hospitalares. Foram avaliadas alterações ocorridas ao nível da cor, textura, grau Brix e capacidade antioxidante e ainda realizada uma análise sensorial de alguns dos alimentos estudados.

Deste modo, foram irradiadas bolachas Oreo® e duas variedades de cerejas do Fundão, Burlat e Sweetheart. No geral não se observou decréscimo significativo dos microrganismos presentes nos alimentos para a gama de doses aplicadas. Foram verificadas alterações significativas ao nível da cor, da textura e do grau Brix para as doses mais elevadas, resultados que estão concordantes com a análise sensorial efectuada.

Palavras-chave: Irradiação de alimentos, radiação gama, inactivação microbiana, qualidade dos alimentos.

Abstract

The ionizing radiations are applied in several fields such as the food. The irradiation of food is a non-thermal process which exposes food to X-ray, gamma or beam electrons with the objective of decontamination food and shelf life increasing as the main goal. The utilization of this process allows for the treatment of food in its package, preventing contamination after irradiation. With this process, the food stays safe, presenting the same nutritional characteristics as food without treatment.

Immuno-compromised patients are subjected to multiple food restrictions, namely fruits and vegetables, due to their debilitated immune system, which affects their mood as well as their quality of life. Irradiated food may be inserted into their meals because there are free of contamination, presenting no risk of infection and increasing the variability of food available.

The goal of the present dissertation is the evaluation of treatment with gamma radiation of food for a possible implementation of food irradiation in hospital meals. The studied parameters were microbiological, color, texture, Brix degree and antioxidant capacity. Additionally, for some produces it was performed a sensorial analyses.

Thus, Oreo[®] cookies and two varieties of cherries from Fundão, Burlat and Sweetheart, were irradiated. In general no significant decrease in microorganisms present in the food was observed for the dose range applied. Slightly alterations in color, texture and Brix degree for higher doses were found. The results are in agreement with the performed sensorial analysis made.

Keywords: Food Irradiation, Gamma Irradiation, Microbial Inactivation, Food Quality

Índice

Agradecimentos.....	ix
Resumo	xi
Abstract	xiii
Índice	xv
Lista de Figuras	xix
Lista de Tabelas	xxiii
Lista de Acrónimos.....	xxv
1. Introdução.....	1
2. Radiação	3
2.1. Irradiação de alimentos	4
2.1.1. Fontes de radiação.....	5
2.1.1.1. Raios X	6
2.1.1.2. Electrões.....	6
2.1.1.3. Raios Gama.....	6
2.2. Irradiação de alimentos para grupos de risco	7
2.3. Irradiação de alimentos a nível Mundial	8
3. Interações e efeitos biológicos da radiação	9
3.1. Interação da radiação com a matéria.....	9
3.1.1. Interação de fótons com a matéria	9
3.1.1.1. Efeito de Compton.....	10
3.1.1.2. Efeito Fotoeléctrico	12
3.1.1.3. Produção de Pares.....	13
3.1.2. Interação dos electrões e positrões com a matéria.....	14

3.1.2.1.	Colisões elásticas	14
3.1.2.2.	Colisões inelásticas	14
3.1.2.3.	Emissão de Bremsstrahlung.....	15
3.1.2.4.	Aniquilação de positrões	15
3.2.	Efeitos biológicos da radiação.....	16
3.2.1.	Radiossensibilidade dos microorganismos	17
3.2.2.	Curvas de sobrevivência	17
4.	Dosimetria	23
4.1.	Grandezas físicas.....	23
4.1.1.	Fluência	23
4.1.2.	Kerma	24
4.1.3.	Dose absorvida e débito de dose.....	24
4.2.	Dosimetria de referência	24
4.2.1.	Dosimetria de Fricke.....	25
4.3.	Dosímetros de rotina	26
4.3.1.	Dosímetros de Polimetilmetacrilato (PMMA).....	26
5.	Qualidade de um alimento	27
5.1.	Textura	28
5.2.	Cor.....	29
5.3.	Grau Brix	30
5.4.	Capacidade antioxidante	31
5.4.1.	Compostos fenólicos	31
5.5.	Análise Sensorial.....	32
6.	Materiais e Métodos	33
6.1.	Amostras	33
6.2.	Irradiação dos alimentos	34
6.2.1.	Equipamento de Irradiação – Precisa 22	34
6.2.2.	Dosimetria de Fricke.....	36
6.2.3.	Tempos de irradiação.....	37
6.2.4.	Dosímetros de rotina	37
6.3.	Avaliação da carga microbiana	39

6.3.1.	Quantificação das unidades formadoras de colónias (ufc)	40
6.3.2.	Caracterização morfológica.....	41
6.4.	Factores de Qualidade	41
6.4.1.	Cor, textura e grau Brix	41
6.4.2.	Capacidade Antioxidante	42
6.4.3.	Análise Sensorial.....	42
7.	Resultados e Discussão	43
7.1.	Dosimetria de Fricke.....	43
7.2.	Desenvolvimento da metodologia	46
7.3.	Irradiação das amostras	47
7.3.1.	Bolachas Oreo®	48
7.3.1.1.	Inactivação da carga microbiana.....	48
7.3.1.2.	Factores de Qualidade	49
7.3.2.	Cerejas – Burlat e Sweetheart	51
7.3.2.1.	Cerejas Burlat.....	51
7.3.2.2.	Cerejas Sweetheart	60
8.	Conclusão e Trabalho Futuro	71
	Bibliografia.....	73
	Anexos.....	76
	A. Dosimetria de Fricke	76
	B. Leitura dos dosímetros	77
	C. Contagens de colónias na câmara de Neubauer	78
	D. Caracterização morfológica	79
	E. Avaliação da cor, textura e grau Brix	82
	F. Capacidade Antioxidante	84
	G. Análise Sensorial.....	87
	H. Lista de alimentos proibidos e permitidos a consumo para pacientes do IPO de Lisboa	89
	I. Brochuras	91

Lista de Figuras

Figura 2.1 - Classificação da radiação. Adaptado de [3].	3
Figura 2.2 - Esquema de decaimento do $^{60}_{27}\text{Co}$ [13].	7
Figura 2.3 - Símbolo internacional de informação de alimento irradiado (radura).	8
Figura 3.1 - Relação entre os tipos de interacção da radiação com a matéria a partir do número atómico (Z) em função da energia . Adaptado de [19].	10
Figura 3.2 – Efeito de Compton. Adaptado de [20].	11
Figura 3.3 - Efeito fotoeléctrico. Adaptado de [20].	12
Figura 3.4 - Produção de pares. Adaptado de [20].	13
Figura 3.5 - Colisão elástica. Adaptado de [20].	14
Figura 3.6 - Colisão inelástica. Adaptado de [20].	14
Figura 3.7 - Emissão de Bremsstrahlung. Adaptado de [20].	15
Figura 3.8 - Aniquilação de positrões. Adaptado de [20].	15
Figura 3.9 - Efeitos directos e indirectos provocados pela radiação nas células. Adaptado de [17].	16
Figura 3.10 – Curva de sobrevivência do tipo exponencial. Adaptado de [24].	18
Figura 3.11 – Curva de sobrevivência do tipo sigmoide. Adaptado de [24].	19
Figura 3.12 – Curva de sobrevivência do tipo convexa. Adaptado de [24].	20
Figura 3.13 – Curva d sobrevivência bifásica. Adaptado de [24].	21
Figura 5.1 – Curva de ensaio típica em equipamentos de avaliação da textura (texturómetros). Adaptado de [32].	29
Figura 5.2 – Representação das coordenadas a^* , b^* e L^* .	30
Figura 6.1 –a) Interior do equipamento de radiação utilizado, Precisa 22. b) Representação do suporte metálico com os respectivos níveis de irradiação. Adaptado de [52].	35
Figura 6.2 – Dimensões do equipamento de radiação, Precisa 22.	35
Figura 6.3 – Orientação dos dosímetros de PMMA escolhida para a dosimetria de Fricke realizada na geometria de irradiação utilizada.	38
Figura 6.4- Orientação dos dosímetros PMMA utilizados na irradiação das amostras na geometria de irradiação utilizada.	38

Figura 6.5 – Representação da câmara de <i>Neubauer</i> para a contagem de colónias. Adaptado de [55].	39
Figura 6.6 - Esquema do método utilizado para a contagem de microrganismos. Adaptado de [14].	40
Figura 7.1 – Curva de inactivação microbiana obtida pela irradiação de bolachas Oreo® inoculadas artificialmente com <i>Bacillus subtilis</i> referente aos testes 1 e 2. Encontram-se também indicados os intervalos de confiança para cada ponto ($n=6$ e $\alpha=0,05$).	47
Figura 7.2 – Curva de inactivação microbiana da população mesófila total das bolachas Oreo®. Encontram-se também representados os intervalos de confiança para cada ponto ($n\leq 6$ e $\alpha=0,05$).	48
Figura 7.3 – Gráfico radar da análise sensorial efectuada às bolachas Oreo® não irradiadas e irradiadas. O centro corresponde ao zero e a extremidade à pontuação máxima 5.	51
Figura 7.4 - Curva de inactivação microbiana da população mesófila total das cerejas Burlat. Encontram-se também representados os intervalos de confiança para cada ponto ($n\leq 6$ e $\alpha=0,05$).	52
Figura 7.5 - Curva de inactivação microbiana da população fúngica das cerejas Burlat. Encontram-se também representados os intervalos de confiança para cada ponto ($n\leq 6$ e $\alpha=0,05$).	52
Figura 7.6 - Recta de calibração para o ácido ascórbico usando o método FRAP. Encontram-se indicados os intervalos de confiança de cada ponto ($n=3$ e $\alpha=0,05$).	56
Figura 7.7 – Recta de calibração para o ácido gálico usando o reagente <i>Folin-Ciocalteu</i> . Encontram-se indicados os intervalos de confiança de cada ponto ($n=3$ e $\alpha=0,05$).	57
Figura 7.8 - Recta de calibração para o ácido ascórbico usando o reagente <i>Folin-Ciocalteu</i> . Encontram-se indicados os intervalos de confiança de cada ponto ($n=3$ e $\alpha=0,05$).	58
Figura 7.9 – Capacidade antioxidante expressa em equivalentes de ácido gálico em função da dose, para as cerejas Burlat. Encontram-se também indicados os intervalos de confiança respectivos para cada ponto ($n=6$ e $\alpha=0,05$).	58
Figura 7.10 – Quantidade de compostos fenólicos totais presentes nas amostras expressos em equivalente de ácido ascórbico em função da dose. Encontram-se também indicados os intervalos de confiança de cada ponto ($n=6$ e $\alpha=0,05$).	59
Figura 7.11 - Quantidade de compostos fenólicos totais presentes nas amostras expressos em equivalente de ácido gálico em função da dose. Encontram-se também indicados os intervalos de confiança de cada ponto ($n=6$ e $\alpha=0,05$).	59
Figura 7.12 – Curvas de inactivação microbiana da população mesófila total das cerejas Sweetheart irradiadas e não irradiadas, para os 3 tempos diferentes de armazenamento. Encontram-se também representados os intervalos de confiança para cada ponto ($n\leq 6$ e $\alpha=0,05$).	61
Figura 7.13 - Curvas de inactivação microbiana da população fúngica das cerejas Sweetheart irradiadas e não irradiadas, para os 3 tempos diferentes de armazenamento. Encontram-se também representados os intervalos de confiança para cada ponto ($n\leq 6$ e $\alpha=0,05$).	61

Figura 7.14 - Capacidade antioxidante das cerejas Sweetheart irradiadas e não irradiadas, expressa em equivalentes de ácido ascórbico em função da dose, para os 3 tempos diferentes de armazenamento. Encontram-se também indicados os intervalos de confiança respectivos de cada ponto (n=6 e $\alpha=0,05$).....	65
Figura 7.15 - Quantidade de compostos fenólicos totais presentes nas cerejas Sweetheart irradiadas e não irradiadas, expressa em equivalentes de ácido gálico em função da dose, para os 3 tempos diferentes de armazenamento. Encontram-se também indicados os intervalos de confiança de cada ponto (n=6 e $\alpha=0,05$).	66
Figura 7.16 - Gráfico radar da análise sensorial efectuada às cerejas Sweetheart irradiadas e não irradiadas, para o tempo 0 de armazenamento. O centro corresponde à pontuação zero e a extremidade à pontuação 5.....	67
Figura 7.17 - Gráfico radar da análise sensorial efectuada às cerejas Sweetheart irradiadas e não irradiadas, para o tempo 2 de armazenamento. O centro corresponde à pontuação zero e a extremidade à pontuação 5.....	68
Figura 7.18 - Gráfico radar da análise sensorial efectuada às cerejas Sweetheart irradiadas e não irradiadas, para o tempo 7 de armazenamento. O centro corresponde à pontuação zero e a extremidade à pontuação 5.....	68
Figura A.1 – Esquema do procedimento para contagens numa câmara de Neubauer.....	78
Figura A.2 - Classificação de bactérias.....	80
Figura A.3 - Caracterização morfológica de colónias	80
Figura A.4 - Tipificação dos microrganismos.....	81
Figura A.5 – Calibração de um refractómetro de <i>Abbe</i>	83

Lista de Tabelas

Tabela 2.1 – Diferentes doses a aplicar para determinado objectivo em diversos alimentos. Adaptado de [7].	5
Tabela 4.1 - Características dos diferentes tipos de dosímetros de PMMA. Adaptado de [26].	26
Tabela 6.1 - Actividade das fontes de cobalto.	36
Tabela 6.2 – Tempo estimado a aplicar nos alimentos para se obter a dose pretendida.	37
Tabela 6.3 – Coeficientes de calibração utilizados no cálculo da dose absorvida utilizando dosímetros de rotina.	38
Tabela 7.1- Rectas e coeficientes de correlação obtidos para as diferentes posições de irradiação no nível 2, obtidas por dosimetria de Fricke.. Estão também indicados os respectivos débitos de dose (kGy) e erros padrão do declive da recta para todas as posições.	44
Tabela 7.2 - Débitos de dose obtidos (kGy) para as diferentes posições de irradiação e respectivos erros padrão.	44
Tabela 7.3 -- Rectas e coeficientes de correlação obtidos para as diferentes posições de irradiação no nível 2, obtidas por dosimetria de Fricke (linhas A, B e C). Estão também indicados os respectivos débitos de dose (kGy) e erros padrão do declive da recta para todas as posições.	45
Tabela 7.4 – Débitos de dose obtidos nas diferentes posições de irradiação e respectivos erros padrão.	45
Tabela 7.5 – Dose prevista a aplicar, tempo estimado de irradiação e dose real obtida para os dois testes.	46
Tabela 7.6 - Valores de D_{10} (kGy) estimados para a população de <i>Bacillus subtilis</i> inoculada artificialmente nas bolachas Oreó®.	47
Tabela 7.7 – Frequência relativa dos tipos de microrganismos isolados (n=60) antes e após irradiação nas bolachas Oreó®.	49
Tabela 7.8 – Valores médios obtidos para os diferentes parâmetros da textura avaliados para as bolachas Oreó® não irradiadas e irradiadas. Encontram-se também indicados os erros padrão de cada valor (n=3).	49

Tabela 7.9 – Valores médios obtidos para as coordenadas do sistema CIEL*a*b* avaliadas nas bolachas Oreo® não irradiadas e irradiadas. Encontram-se também indicados os erros padrão de cada valor (n=5). Os valores que apresentam letras iguais não são considerados significativamente diferentes (p>0,05).	50
Tabela 7.10 - Frequência relativa dos tipos de microrganismos isolados (n=729) antes e após irradiação nas cerejas Burlat.	53
Tabela 7.11 - Valores médios obtidos para os diferentes parâmetros da textura avaliados nas cerejas Burlat irradiadas e não irradiadas. Encontram-se também indicados os erros padrão de cada valor (n=10). Os valores que apresentam letras iguais não são considerados significativamente diferentes (p>0,05).	54
Tabela 7.12 - Valores médios obtidos para as coordenadas do sistema CIEL*a*b* nas cerejas Burlat irradiadas e não irradiadas. Encontram-se também indicados os respectivos erros padrão de cada valor (n=9). Os valores que apresentam letras iguais não são considerados significativamente diferentes (p>0,05).	54
Tabela 7.13 - Valores médios obtidos de grau Brix para as cerejas Burlat irradiadas e não irradiadas. Encontram-se também indicados os respectivos erros padrão de cada valor (n=4).	55
Tabela 7.14 – Concentrações utilizadas da solução padrão (ácido ascórbico) bem como os respectivos valores médios de absorvância obtidos a 593nm e erros padrão.	56
Tabela 7.15 – Concentrações utilizadas da solução padrão (ácido gálico) bem como os respectivos valores médios de absorvância obtidos a 765nm e erros padrão.	57
Tabela 7.16 - Concentrações utilizadas da solução padrão (ácido ascórbico) bem como os respectivos valores médios de absorvância obtidos a 765nm e erros padrão.	57
Tabela 7.17 Frequência relativa dos tipos de microrganismos isolados (n=259) antes e após irradiação nas cerejas Sweetheart.	62
Tabela 7.18 - Valores médios obtidos para os diferentes parâmetros da textura avaliados nas cerejas Sweetheart irradiadas e não irradiadas, nos 3 tempos diferentes de armazenamento. Encontram-se também indicados os erros padrão associados (n=10). Os valores que apresentam letras iguais não são considerados significativamente diferentes (p>0,05).	63
Tabela 7.19 – Valores médios obtidos para as coordenadas do sistema CIEL*a*b* nas cerejas Sweetheart irradiadas e não irradiadas, nos 3 tempos diferentes de armazenamento. Encontram-se também indicados os respectivos erros padrão de cada valor (n=9). Os valores que apresentam letras iguais não são considerados significativamente diferentes (p>0,05). ...	64
Tabela 7.20 – Valores médios obtidos de grau Brix para as cerejas Sweetheart irradiadas e não irradiadas, nos 3 tempos diferentes de armazenamento. Encontram-se também indicados os erros padrão associados (n=4). Os valores que apresentam letras iguais não são considerados estatisticamente diferentes (p>0,05).	65

Lista de Acrónimos

AAE – Equivalentes de ácido ascórbico
ADN – Ácido Desoxirribonucleico
Bq – Becquerel
Ci – Curie
 ^{60}Co – Cobalto 60
 ^{137}Cs – Césio 137
eV – Electrão-Volt,
FRAP – Ferric Reducing Antioxidant Power
GAE – Equivalentes de ácido gálico
Gy – Gray
IPO – Instituto Português de Oncologia
Kerma - Kinetic Energy Released per Unit Mass
LET – Linear Energy Transfer
PDA- Potato Dextrose Agar
PMMA – Polimetilmetacrilato
TPA – Texture Profile Analysis
TPTZ – 2,4,6-tri[2-piridil]-s-triazina
TSA – Tryptic Soy Agar
ufc – Unidades formadoras de colónias



Capítulo 1

1. Introdução

Os alimentos contaminados são considerados, a nível mundial, um dos maiores problemas para a saúde pública [1]. Os agentes nocivos à saúde, nomeadamente alguns microrganismos, presentes nestes alimentos levam a que pessoas com o sistema imunitário debilitado sejam sujeitas a dietas muito restritas. A falta de variedade na alimentação destes pacientes pode levar a uma alteração tanto no seu estado de espírito como na sua qualidade de vida.

Uma das aplicações das radiações ionizantes é no tratamento de alimentos visando o retardamento da sua deterioração através da inactivação da carga microbiana neles presentes. Nos últimos anos, em vários países, a irradiação de alimentos tem sido utilizada para aumentar a variedade de refeições de grupos de risco [2].

Em Portugal o tratamento de alimentos por radiação ainda é pouco aplicado, e serve o presente trabalho para avaliar as alterações provocadas pela radiação gama em cerejas e bolachas Oreó[®] com o objectivo de poder aumentar a variedade de alimentos de pacientes imunocomprometidos.

No capítulo 2 é feita uma breve introdução à radiação e à irradiação de alimentos onde são descritas as doses necessárias a aplicar em determinados alimentos consoante o objectivo de tratamento que se pretende.

Os tipos de interacção da radiação com a matéria bem como os efeitos biológicos causados nos microrganismos pela radiação são apresentados no capítulo 3. São explicados os principais tipos de interacção e as diferentes curvas de sobrevivência que os microrganismos podem apresentar.



No capítulo 4 estão descritos alguns conceitos relativos à dosimetria. São apresentadas algumas grandezas dosimétricas importantes na realização do trabalho e explicada o tipo de dosimetria utilizada.

A qualidade de um produto pode ser avaliada segundo vários parâmetros. No capítulo 5 é feita uma breve introdução a alguns deles que, todos juntos, fazem parte da aceitabilidade do alimento por parte do consumidor. Foram avaliados como factores de qualidade a textura, cor, grau Brix e capacidade antioxidante, sendo explicado também em que consiste uma análise sensorial.

No capítulo 6 são abordados todos os materiais e métodos utilizados neste trabalho. Refere-se como foi realizada a dosimetria de Fricke bem como em que consistiu a metodologia para avaliar a carga microbiana nos alimentos estudados. Estão indicados também os equipamentos utilizados na avaliação de cada parâmetro de qualidade avaliado. Os procedimentos poderão ser vistos em mais detalhe nos anexos.

No capítulo 7 são apresentados e discutidos os resultados obtidos ao longo da realização deste trabalho. São apresentadas as diferentes doses obtidas pela dosimetria de Fricke e as curvas de inactivação dos microrganismos para os diferentes alimentos avaliados. Estão apresentados também todas as alterações provocadas nos vários factores de qualidade.

O estágio foi realizado no Campus Tecnológico e Nuclear do Instituto Superior Técnico, no Laboratório de Ensaios Tecnológicos em Áreas Limpas (LETAL). Como fonte da radiação, foi utilizada uma fonte experimental de Cobalto 60 (^{60}Co), Precisa 22, localizada no campus. A avaliação dos parâmetros textura, cor e grau Brix foi realizada no Instituto Politécnico de Santarém – Escola Superior Agrária. Um dos alimentos escolhidos para estudo foi as bolachas Oreo[®] visto serem consumidas em todo o mundo e serem uma das bolachas preferidas de muitas crianças. Foi escolhida também a cereja, visto ser das frutas mais admiradas a nível internacional e devido a diversas características como a capacidade antioxidante.

O trabalho desenvolvido encontra-se integrado num projecto da Agência Internacional de Energia Atómica que visa a avaliação da aplicação da radiação ionizante no tratamento de frutas e vegetais para pacientes imunocomprometidos. Como tal, e sendo um dos objectivos deste projecto a aplicação destes alimentos irradiados nas refeições destes pacientes, houve a oportunidade de reunir com Instituto Português de Oncologia (IPO). O objectivo foi recolher o máximo de informação relativa às restrições a que são sujeitos os pacientes bem como os alimentos que ingerem ou que gostariam de ingerir. Nos alimentos inseridos na lista de restrições, encontram-se as bolachas Oreo[®], pedidas por muitas das crianças presentes no hospital. No anexo H encontra-se uma lista dos produtos permitidos e proibidos para consumo dos pacientes do IPO de Lisboa e no anexo I, duas brochuras realizadas para a explicação do processo de irradiação de alimentos. Uma de linguagem simples e clara com o objectivo de fornecer alguma informação aos doentes e seus familiares e outra, um pouco mais detalhada, para fornecer aos profissionais de saúde.



Capítulo 2

2. Radiação

A radiação, consoante a sua capacidade de ionizar a matéria, classifica-se em ionizante e não ionizante. O potencial de ionização dos átomos, ou seja, a energia mínima necessária para excitar e ionizar um átomo, varia entre poucos eV para os elementos alcalinos e 24.6 eV para o hélio (gás nobre) [3]. Na figura 2.1 é possível observar os diferentes tipos de radiação.

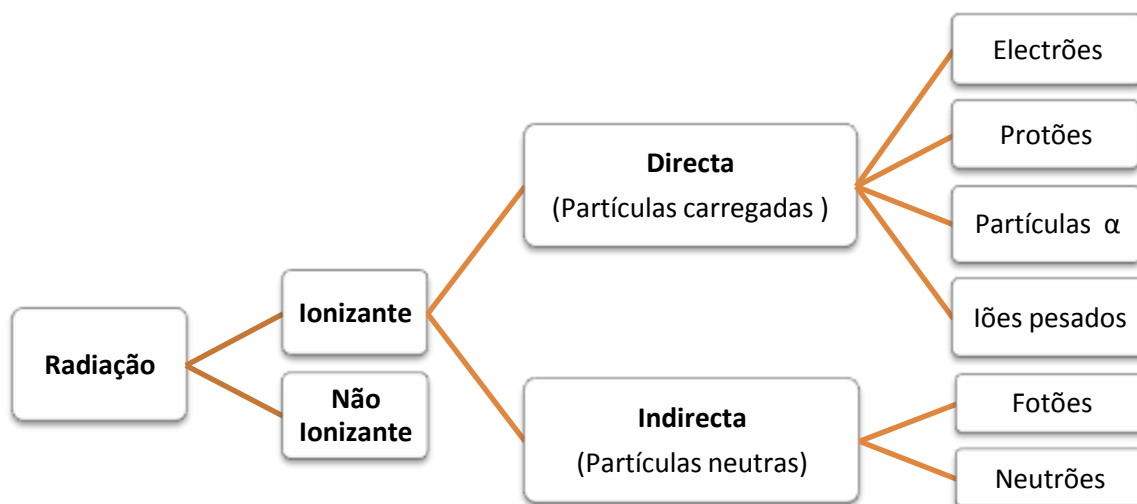


Figura 2.1 - Classificação da radiação. Adaptado de [3].



A radiação não ionizante não é suficiente para ionizar a matéria visto a energia das partículas ser inferior ao potencial de ionização dos átomos do material absorvedor. A luz visível, os infravermelhos e as ondas rádio são exemplos deste tipo de radiação.

Quando a energia é suficiente para excitar e ionizar os átomos da matéria, a radiação diz-se ionizante. Este tipo de energia pode ser classificado tendo em conta o modo de deposição de energia e a densidade de ionização provocada no material absorvedor.

De acordo com o modo de deposição da energia, a radiação ionizante subdivide-se em directa e indirecta.

- Radiação directamente ionizante – Referente a partículas carregadas. Há uma interacção contínua, através de forças coulombianas, entre estas partículas e os electrões dos átomos da matéria envolvente.
- Radiação indirectamente ionizante - Referente a partículas neutras. A deposição de energia é concluída em duas etapas.
 1. As partículas neutras incidentes libertam partículas carregadas no meio (os fótons libertam electrões ou pares positrão/electrão e os neutrões libertam protões ou iões pesados).
 2. As partículas carregadas libertadas interagem através de forças coulombianas com os electrões dos átomos do material absorvedor [3].

Já a densidade de ionização está directamente relacionada com a transferência linear de energia (LET), que é definida como a energia média depositada pela partícula por unidade de comprimento.

O LET subdivide-se em baixo e alto caso apresente um valor inferior ou superior a 10 keV/ μ m, respectivamente. Na região de baixo LET encontram-se os raios-X, os raios gama e electrões e de alto LET os protões e iões pesados [5].

2.1. Irradiação de alimentos

A irradiação de alimentos é uma das muitas áreas onde é aplicada a radiação ionizante. Nos últimos anos, são vários os países que utilizam este processo, dito como eficaz e seguro na descontaminação de alimentos, tanto para fins comerciais como para um aumento da variedade das refeições disponíveis para grupos de risco [6, 7].

O tratamento por irradiação tem o mesmo propósito que o congelamento, as altas temperaturas ou tratamentos químicos. De maneira geral, os alimentos são expostos à radiação com o objectivo de reduzir a quantidade de microrganismos neles presentes e assim retardar a deterioração dos alimentos [1, 8] .

As doses utilizadas para o tratamento de alimentos variam entre 10 Gy e 10 kGy consoante o objectivo que se pretende. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), doses acima dos 10 kGy podem induzir substâncias tóxicas ou alterar valores nutricionais nos alimentos irradiados [7, 9].



A tabela 2.1 indica a dose a utilizar em diferentes alimentos consoante o objectivo que é pretendido.

Tabela 2.1 – Diferentes doses a aplicar para determinado objectivo em diversos alimentos. Adaptado de [7].

Alimentos	Dose máxima (kGy)	Aplicação
Tubérculos, raízes ou bolbos	0,2	Inibição de germinação durante armazenamento
Frutas frescas e vegetais	1,0	Atraso do amadurecimento;
	2,5	Extensão do tempo de prateleira;
	1,0	Desinfestação de insectos
Cereais e produtos moídos, nozes, frutas secas e sementes oleaginosas	1,0	Desinfestação de insectos;
	5,0	Redução da carga microbiana
Peixe, marisco e seus derivados (congelados ou frescos)	5,0	Redução da carga microbiana;
	3,0	Extensão do tempo de prateleira;
	2,0	Controlo da infecção por parasitas
Aves e carne crua e seus derivados (congelados ou frescos)	7,0	Redução da carga microbiana;
	3,0	Extensão do tempo de prateleira;
	2,0	Controlo da infecção por parasitas
Legumes secos, especiarias, alimentos para animais, ervas secas e chás	10	Redução da carga microbiana;
	1,0	Desinfestação de insectos
Alimentos secos de origem animal	1,0	Desinfestação de insectos
	3,0	Controlo dos mofos
Alimentos de hospitais, rações militares, especiarias	>10,0	Redução da carga microbiana;
	>10,0	Esterilização

2.1.1.Fontes de radiação

Para a irradiação de alimentos podem ser utilizados 3 tipos de radiação capazes de atingir os objectivos pretendidos sem activar os alimentos. São elas [1]:

- Raios X;
- Electrões;
- Raios gama provenientes de fontes radioactivas Cobalto 60 (^{60}Co) e Césio 137 (^{137}Cs).



2.1.1.1. Raios X

Os raios X são produzidos maioritariamente em ampolas de raios X. Devido ao efeito termiónico, há produção de partículas carregadas (electrões) num cátodo e que são aceleradas até a um alvo metálico (ânodo) devido à diferença de potencial entre eles. Quando os electrões chocam com o ânodo, a sua energia cinética é convertida em raios X [3].

Este tipo de radiação electromagnética tem um elevado poder de penetração e, portanto, sugere-se a sua utilização para produtos espessos. Como se trata de uma radiação muito energética e de modo a não activar os alimentos processados, foi imposto um limite máximo de energia de 5 MeV a aplicar. Ainda assim, este limite poderá ser aumentado para 7,5 MeV visto não haver perigo eminente até este valor [7].

A eficiência na produção desta radiação a partir de ampolas aumenta com o aumento da energia dos electrões, mas a percentagem final produzida nunca é relevante. Assim sendo, e como também se trata de um processo bastante dispendioso, os raios X são pouco utilizados na irradiação de alimentos [10].

2.1.1.2. Electrões

Os electrões são partículas obtidas a partir de aceleradores e apresentam menor poder de penetração do que os raios gama ou os raios X [11]. Como tal, o seu uso é aconselhado para produtos menos espessos e que se encontrem em embalagens finas.

Também para este tipo de radiação foi imposto um limiar máximo de energia a usar, 10 MeV, para evitar a activação dos alimentos [7].

O uso de uma fonte de electrões e de raios X traz a vantagem de poder ser desligada e ligada quando assim é necessário e ainda do feixe ser dirigido para o produto e não em todas as direcções, como é o caso das fontes de radiação gama. Contudo, exige um elevado consumo de energia e constante manutenção [10, 12].

2.1.1.3. Raios Gama

Os raios gama são obtidos a partir do decaimento de radioisótopos. Estes elementos instáveis, emitem radiação através de desintegrações espontâneas com o objectivo de atingirem a estabilidade [10].

No tratamento de alimentos, este é o tipo de radiação mais utilizado. As principais fontes usadas para obter os raios gama são os isótopos ^{137}Cs e ^{60}Co com tempos de semi-vida, 30.1 e 5.27 anos, respectivamente. Actualmente, a nível comercial, a fonte mais utilizada é a de ^{60}Co devido à sua fácil produção a partir do metal ^{59}Co em reactores nucleares, sendo também a utilizada no presente trabalho.



O ^{60}Co é um radioisótopo que, para atingir a estabilidade, decai para o isótopo excitado ^{60}Ni emitindo principalmente uma partícula β^- de energia máxima 0.313 MeV. Por sua vez, e de imediato, o ^{60}Ni excitado passa ao estado fundamental emitindo dois fótons com energias de 1.173 MeV e 1.332 MeV (figura 2.2) [13].

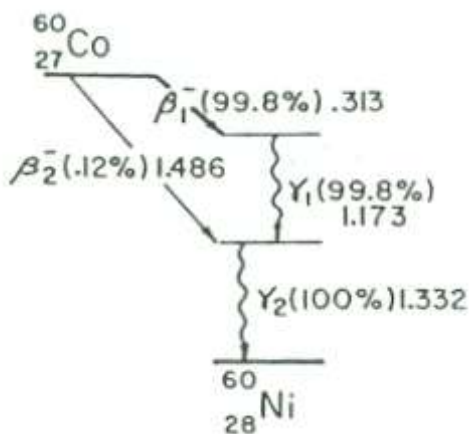


Figura 2.2 - Esquema de decaimento do $^{60}_{27}\text{Co}$ [13].

A fonte de ^{60}Co tem a vantagem de decair para um isótopo não radioactivo, não apresentando assim grande risco para o ambiente. A equação que traduz o decaimento é [14]:



A taxa de decaimento de um radionuclídeo designa-se por actividade e é dada pelo número de átomos que se desintegram por unidade de tempo.

$$A = -\frac{dN}{dt} \quad (2.2)$$

A unidade utilizada é o becquerel (Bq), onde $1 \text{ Bq} = 1$ desintegração por segundo. Pode também ser usada como unidade para a actividade o curie (Ci) em que $1 \text{ Ci} = 3.7 \times 10^{10} \text{ Bq}$ [5].

2.2. Irradiação de alimentos para grupos de risco

Os imunocomprometidos são pacientes que apresentam sistema imunitário bastante debilitado. Assim, e de modo a evitar agravamentos do seu estado de saúde, são sujeitos a dietas muito restritas com uma variedade de alimentos muito pequena para consumo.

Os alimentos irradiados podem ser inseridos nas refeições destes pacientes aumentando a sua diversidade de escolha. Os alimentos tratados por radiação ficam mais



seguros devido à redução de microrganismos pela radiação e apresentam um tempo de prateleira maior [2].

Este processo apresenta também como vantagem o facto dos produtos poderem ser irradiados na sua embalagem final, evitando o risco de contaminação dos alimentos irradiados [1].

2.3. Irradiação de alimentos a nível Mundial

A história da irradiação de alimentos iniciou-se à cerca de 100 anos e, presentemente, é um processo aplicado em 55 países. O primeiro país a usar este processo para fins comerciais foi a Alemanha em 1957 quando um produtor de especiarias irradiou os seus produtos com electrões de modo a melhorar as qualidades higiénicas. A partir de então, o processo de irradiação de alimentos tem vindo a ser aceite em diversos países e é nos continentes Ásia e Oceania onde se verifica um maior número de alimentos irradiados. Especiarias, vegetais secos, carne, batatas e frutas são exemplos de alimentos que são sujeitos a este processo [6, 15].

Em Portugal e segundo o decreto-lei 337 de 26 de Dezembro de 2001, os únicos alimentos que podem ser expostos à radiação ionizante são as ervas aromáticas secas, especiarias e condimentos vegetais com uma dose máxima aplicável de 10 kGy.

Os alimentos acima descritos só podem ser irradiados com objectivos bem definidos, nomeadamente, descontaminação e aumento do tempo de prateleira. Após irradiados, os alimentos deverão estar devidamente rotulados com o símbolo radura de modo a informar o consumidor que se trata de um alimento processado por radiação ionizante (figura 2.3) [16].



Figura 2.3 - Símbolo internacional de informação de alimento irradiado (radura).



Capítulo 3

3. Interacções e efeitos biológicos da radiação

A interacção da radiação com a matéria traduz-se pela transferência de energia ao longo do material absorvedor. Os efeitos causados pela radiação variam consoante o tipo de material e a quantidade de energia transferida. Neste capítulo serão apresentadas os tipos de interacção da radiação com a matéria mais relevantes para a irradiação de alimentos bem como os efeitos biológicos induzidos pela radiação.

3.1. Interacção da radiação com a matéria

3.1.1. Interacção de fótons com a matéria

Os fótons são partículas neutras com grande poder de penetração, podendo percorrer longas distâncias sem qualquer interacção com a matéria. A secção eficaz é uma medida da probabilidade de interacção que depende tanto da energia de cada fóton como do número atómico do material absorvedor.

As interacções podem dar-se com o átomo como um todo, apenas com os electrões das orbitais, ou simplesmente com o núcleo dos átomos do material absorvedor, podendo o fóton ser absorvido e desaparecer, ou simplesmente sofrer uma dispersão [5, 17].

Este conjunto de factores faz distinguir 5 tipos de interacções[18]:

- Efeito de Compton
- Efeito Fotoeléctrico
- Produção de Pares



- Dispersão de Rayleigh
- Interação fotonuclear

Como no presente trabalho foi empregada a radiação gama, importam só os mecanismos de interação com fótons de energias mais elevadas. Assim, as principais interações para a irradiação de alimentos por radiação gama são o efeito fotoeléctrico, efeito de compton e produção de pares.

O efeito fotoeléctrico predomina para valores de baixa energia, enquanto que em valores intermédios prevalece o efeito de compton. Quando os valores de energia são elevados, o tipo de interação predominante é a produção de pares tal como pode ser observado na figura 3.1 [19].

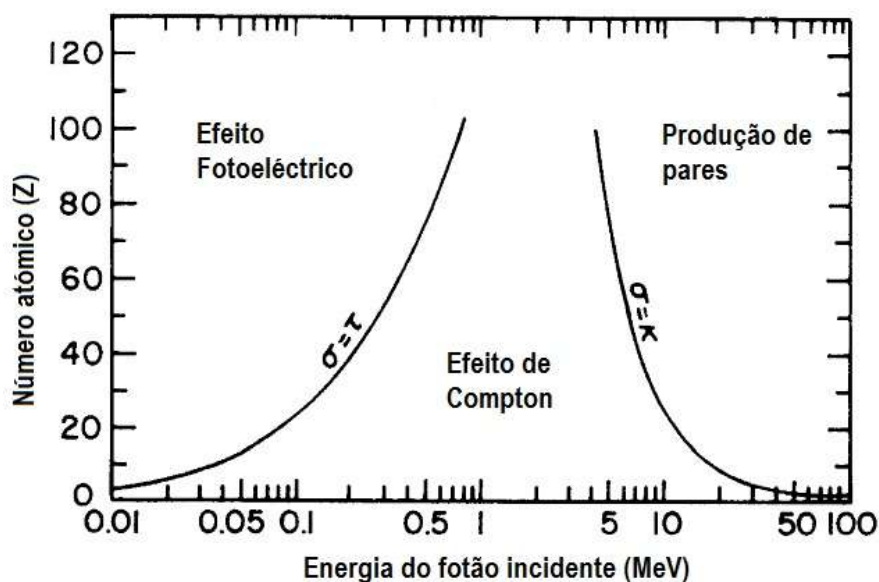


Figura 3.1 - Relação entre os tipos de interação da radiação com a matéria a partir do número atômico (Z) em função da energia .Adaptado de [19].

3.1.1.1. Efeito de Compton

O efeito de compton traduz-se pela colisão de um fóton com um electrão da última camada de um átomo (figura 3.2). Quando a energia do fóton é muito baixa, o electrão permanece ligado à orbital e o átomo reage como um todo. Caso a energia seja suficiente, o electrão é ejectado ou excitado [3].

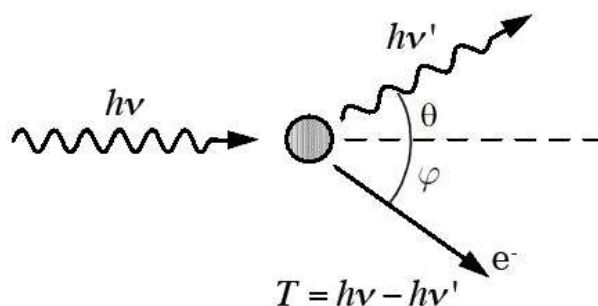


Figura 3.2 – Efeito de Compton. Adaptado de [20].

Um fóton de energia $h\nu$ e momento linear $\frac{h\nu}{c}$, ao colidir com o electrão, provoca a sua ejeção (com uma dada energia T e um momento linear $\frac{h\nu'}{c}$) para um nível atómico mais elevado. Já o fóton sofre dispersão (segundo um ângulo θ relativamente à direcção do fóton incidente e um momento linear p) com um valor mais baixo de energia que inicialmente. No final, o átomo volta ao estado fundamental através da emissão de fótons de fluorescência e electrões de Auger ou Coster-Kronig.

Considerando o fóton com energia $h\nu$ e momento linear $\frac{h\nu}{c}$, da conservação da energia e da conservação do momento linear resultam, respectivamente [19]:

$$T = h\nu - h\nu' \quad (3.1)$$

$$\frac{h\nu}{c} = \frac{h\nu'}{c} \cos \theta + p \cos \varphi \quad (3.2)$$

A relação entre os comprimentos de onda do fóton incidente (λ) e do fóton disperso (λ') pode ser obtida a partir de um rearranjo das equações acima referidas, obtendo-se [3]:

$$\lambda' = \lambda + \frac{h}{m_e c} (1 - \cos \theta) \quad (3.3)$$

Onde m_e é a massa do electrão e c a velocidade da luz no vácuo.

A secção eficaz diferencial do efeito de Compton é dependente do ângulo sólido (Ω) e da energia (equação 3.4). O efeito de Compton é independente do número atómico do material absorvedor e diminuiu com o aumento da energia do fóton [3, 19].

$$d\sigma = \frac{r_e^2}{2} d\Omega \left(\frac{h\nu'}{h\nu} \right)^2 \left[\frac{h\nu'}{h\nu} + \frac{h\nu}{h\nu'} - \sin^2(\theta) \right] \quad (3.4)$$

Onde:

- r_e - Raio clássico do electrão ($2.82 \times 10^{-15} m$).



3.1.1.2. Efeito Fotoeléctrico

No efeito fotoeléctrico a interacção dá-se entre o fotão e o átomo (e não entre o fotão e o electrão), pois só assim é verificada a conservação do momento linear (figura 3.3) [5].

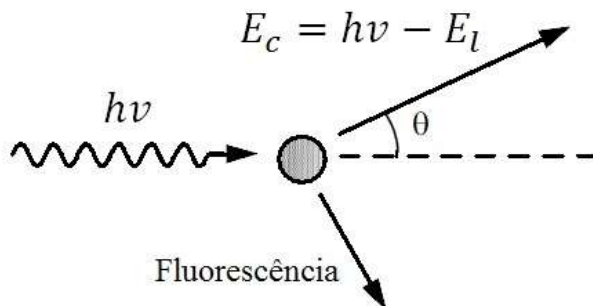


Figura 3.3 - Efeito fotoeléctrico. Adaptado de [20].

O fotão é absorvido na totalidade e como resultado, há ejeção de um electrão, também conhecido como fotoelectrão. Esta reacção de conversão pode ser dada pela equação 3.5.



Onde X e X^+ correspondem ao átomo no estado normal e excitado, respectivamente.

O electrão ejectado apresenta uma energia cinética dada por:

$$E_c = hv - E_l \quad (3.6)$$

Onde hv é a energia do fotão incidente e E_l a energia de ligação do electrão [19].

Uma vez excitado, o átomo fica com uma lacuna por preencher numa das suas camadas e que poderá ser preenchida por um electrão de uma camada vizinha. Quando ocorre a transição, há emissão de electrões de Auger ou Coster-Kronig e de um fotão (fotão de fluorescência) de energia igual à diferença de energia inicial e final do electrão envolvido [18].

O efeito fotoeléctrico ocorre predominantemente numa camada K onde os electrões se encontram fortemente ligados. A secção eficaz do efeito fotoeléctrico nessa camada K é dada pela equação 3.7, que é utilizada para estimar a secção eficaz total desta interacção [18].

$$\sigma_K = \frac{8\pi r_e^2}{3} \cdot 4\sqrt{2} \left(\frac{m_e c^2}{hv} \right)^{\frac{7}{2}} Z^5 \alpha^4 \quad (3.7)$$

Onde:

- r_e^2 - Raio clássico do electrão ($2.82 \times 10^{-15}m$);
- $m_e c^2$ - Energia de repouso do electrão (0,511 MeV);



- α – Constante de estrutura fina.

O efeito fotoeléctrico apresenta descontinuidades nas energias correspondentes às energias de ligação das orbitais electrónicas. A probabilidade de ocorrer este efeito aumenta fortemente com Z e diminui com o aumento da energia do fotão [18, 19].

3.1.1.3. Produção de Pares

Para que ocorra a produção de pares, a energia do fotão tem de ser superior ao limiar de $2 \times 0.501 \text{ MeV} = 1.02 \text{ MeV}$, correspondente à energia do electrão e do positrão em repouso [3].

Quanto acontece, o fotão interage com o núcleo atómico, onde há absorção completa do fotão e formação de um par electrão-positrão (figura 3.4). Este tipo de interacção pode ser representado pela equação 3.8 [3].



Onde X e X^* correspondem ao núcleo no estado normal e excitado, respectivamente [18].

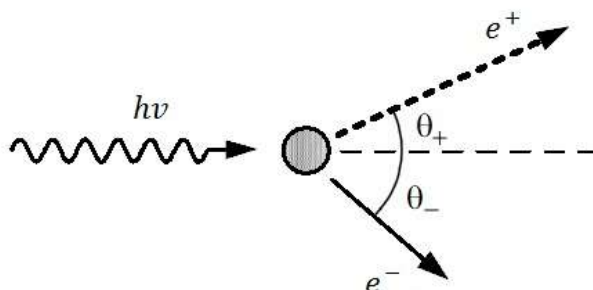


Figura 3.4 - Produção de pares. Adaptado de [20].

Este tipo de interacção pode, eventualmente, ocorrer nas orbitais atómicas, desde que o limiar de energia do fotão ultrapasse $4m_e c^2$. Como resultado há formação de um tripleto (um positrão e um par de electrões) [18].

Os positrões produzidos durante este processo apresentam tempos de vida muito curtos. Isto porque interagem logo de seguida com os electrões do meio para produzir fotões por aniquilação [18].

A probabilidade de ocorrer a produção de pares aumenta com a energia dos fotões e com o número atómico ($\propto Z^2$) [17].



3.1.2. Interacção dos electrões e positrões com a matéria

Um electrão ou positrão ao colidir com um material de número atómico Z pode interagir de maneiras diferentes. Os tipos de interacção possíveis com a matéria são [20]:

- Colisões elásticas
- Colisões inelásticas
- Emissão de Bremsstrahlung
- Aniquilação de positrões

3.1.2.1. Colisões elásticas

Numa colisão elástica não ocorre excitação electrónica do material e a energia cinética do electrão e átomo é conservada. O electrão colide com os átomos do material e sofre dispersão segundo um ângulo θ devido ao campo eléctrico dos átomos. Este campo eléctrico é criado pela distribuição de carga do núcleo e da nuvem electrónica (figura 3.5). Devido à razão de massas entre o átomo e o electrão, o electrão, quando sofre dispersão, possui praticamente toda a energia que tinha. [20].

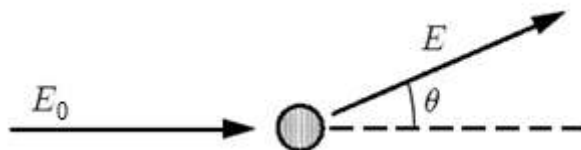


Figura 3.5 - Colisão elástica. Adaptado de [20].

3.1.2.2. Colisões inelásticas

As colisões elásticas são o tipo de interacção dominante de perda de energia para electrões e positrões com energias intermédias e baixas. Nesta interacção ocorre excitação da matéria. O electrão quando colide com os átomos do material sofre dispersão e excita estes átomos para um nível mais elevado voltando, posteriormente, ao estado fundamental emitindo uma ou mais partículas (figura 3.6) [20].

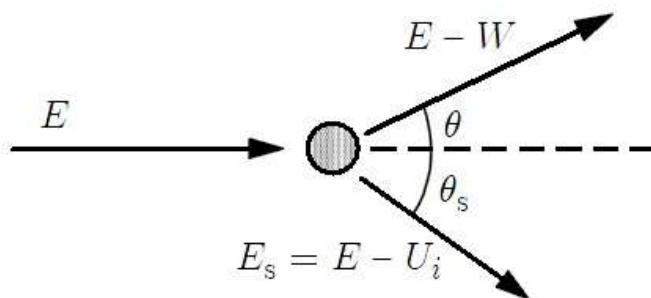


Figura 3.6 - Colisão inelástica. Adaptado de [20].



A energia cinética do electrão não é conservada neste tipo de colisões, mas como em todos os processos, a energia total do sistema permanece constante [18].

3.1.2.3. Emissão de Bremsstrahlung

À medida que os electrões e positrões atravessam o material vão sendo desacelerados. Parte da energia cinética, E , perdida destas partículas ocorre por emissão de radiação (W). Esta radiação emitida é denominada por radiação de travagem ou de Bremsstrahlung (figura 3.7) [18].

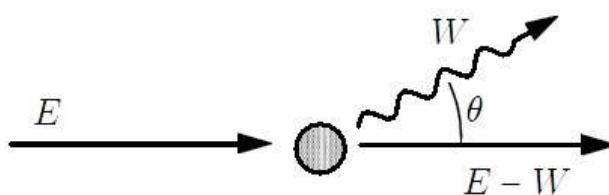


Figura 3.7 - Emissão de Bremsstrahlung. Adaptado de [20].

3.1.2.4. Aniquilação de positrões

Na aniquilação de positrões, um positrão colide com um electrão atômico do material. O positrão aniquila com o electrão e há produção de dois fótons (figura 3.8).

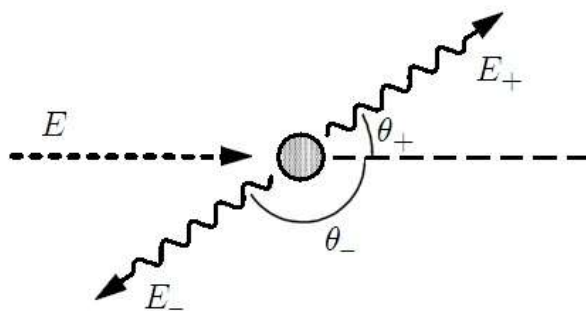


Figura 3.8 - Aniquilação de positrões. Adaptado de [20].

Caso a aniquilação ocorra para energias baixas, onde a secção eficaz é máxima, os fótons são emitidos em direcções opostas e, de modo a haver conservação da energia durante o processo, cada fóton tem uma energia de 511 keV [18].

3.2. Efeitos biológicos da radiação

Quando a radiação interage com o alimento tem por objectivo inactivar os microrganismos nele presentes através da interrupção da divisão celular dos mesmos. Assim, quando há absorção da radiação, os microrganismos sofrem danos biológicos que podem ser devidos a dois tipos de efeitos, directos ou indirectos, que se distinguem pelo local onde é depositada a radiação (figura 3.9) [13, 14].

Efeitos directos – Este tipo de efeito é verificado para radiação de alto LET (neutrões e partículas α), e caracteriza-se por haver uma interacção directa da radiação com a estrutura de ADN (ácido desoxirribonucleico) da célula. Estima-se que para uma dose de radiação absorvida de 0.1 kGy resulte em 2.8% de danos no ADN [21].

Efeitos indirectos – A radiação interage com as moléculas de água presentes no produto. Por consequência da interacção, há formação dos radicais livres, nomeadamente $H\cdot$ e $OH\cdot$, que por serem altamente reactivos, podem reagir entre si e dar origem a H_2 , H_2O_2 e H_2O . Este processo denomina-se por radiólise da água, sendo o radical hidroxilo obtido, $OH\cdot$, o responsável por cerca de 90% das lesões no ADN, tornando os efeitos indirectos a principal causa da morte celular [13].

A resistência à radiação por parte dos microrganismos está directamente relacionada com as suas estruturas químicas e físicas e ainda com a radiosensibilidade das células que os constituem [22]. Esta radiosensibilidade está directamente relacionada com a capacidade que a célula possui em recuperar os danos causados pela radiação. Este factor pode ser descrito pelo valor de D_{10} que corresponde à dose necessária a aplicar num produto para inactivar cerca de 90% da população microbiana. A radiosensibilidade de uma célula à radiação difere consoante a fase do ciclo celular em que a célula se encontra, sendo mais sensível na parte final da fase G2 e mitose e mais resistente no final da fase S [14, 23].

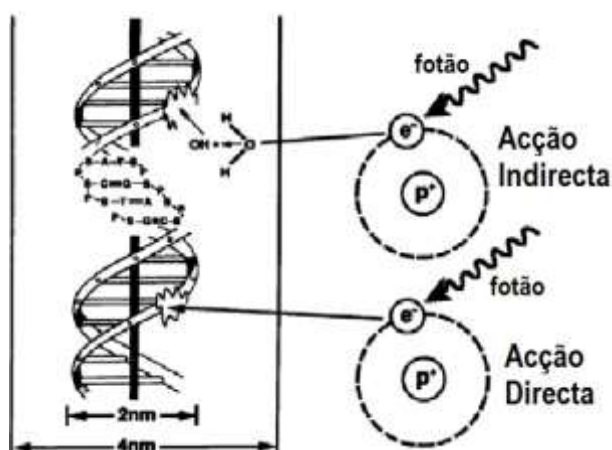


Figura 3.9 - Efeitos directos e indirectos provocados pela radiação nas células. Adaptado de [17].



3.2.1. Radiossensibilidade dos microrganismos

Existem outros factores relevantes à resistência dos microrganismos à radiação.

Factores intrínsecos – Vírus, bactérias, fungos e leveduras podem ser inactivados com a radiação. O efeito provocado pela radiação, quando aplicada a mesma dose, difere da resistência de cada microorganismo. De todos os microrganismos, os vírus e leveduras são, de forma geral, os mais resistentes. As bactérias vegetativas apresentam uma menor resistência do que as bactérias com esporos e do que os fungos. Diferentes estirpes da mesma espécie de bactérias podem ter respostas diferentes à radiação. O mesmo acontece com os fungos em que a sua radiossensibilidade está dependente do número de células em cada esporo e o número de núcleos por célula [14, 22].

O tamanho e o arranjo estrutural da cadeia de ADN do microorganismo é também um factor decisivo na sua radiossensibilidade. Quanto maior for a cadeia menor a probabilidade de dano letal para o microorganismo [13].

Factores extrínsecos – Existem diversos factores extracelulares que podem interferir na resistência do microorganismo à radiação.

- Presença de oxigénio. Maior a quantidade de oxigénio presente no processo, maior o efeito letal provocado nos microrganismos;
- Teor de água. Quando a irradiação se processa em meio seco, os microrganismos apresentam uma maior resistência pois há uma menor produção de radicais livres. Por consequência, não são observados efeitos indirectos.
- Temperatura. A irradiação processada a uma temperatura mais baixa, não causa tanto dano biológico. Isto porque os radicais livres não interagem tão livremente com a matéria.
- Condições pós-irradiação. Os microrganismos sobreviventes às doses aplicadas ficam sensíveis a factores como o pH e temperatura [13].

3.2.2. Curvas de sobrevivência

Os gráficos que apresentam a fracção de células sobreviventes em função da dose aplicada chamam-se curvas de sobrevivência. São várias as teorias propostas que tentam justificar as diferentes curvas, baseando-se na dose aplicada e no número de zonas sensíveis/letais a atingir pela radiação em cada célula para que ocorra morte celular [24].

Curva exponencial

As curvas exponenciais podem ser explicadas através da teoria do alvo, modelo uma zona sensível/1 toque, que diz respeito a células com apenas uma zona letal. Assim, ocorre



morte celular quando a radiação atinge essa zona, independentemente se mais alguma parte da célula é ou não atingida. Este tipo de curva é característico de radiação de alto LET e microrganismos como bactérias normalmente apresentam este decréscimo exponencial (figura 3.10) [24].

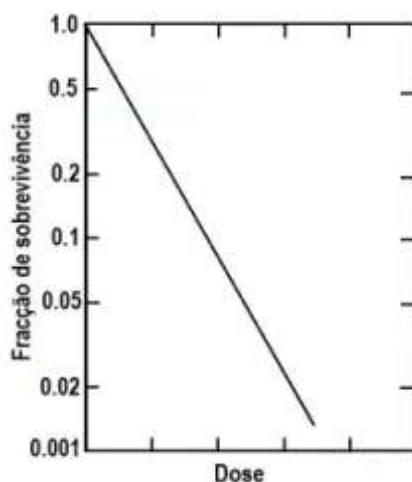


Figura 3.10 – Curva de sobrevivência do tipo exponencial. Adaptado de [24].

O decréscimo exponencial observado pode ser descrito pela equação 3.9 [13, 14].

$$N = N_0 e^{-\frac{D}{D_0}} \quad (3.9)$$

Onde:

- N - Número de colónias sobreviventes à dose aplicada;
- D - Dose aplicada;
- N_0 - Número inicial de células;
- D_0 - Dose necessária para reduzir a população inicial para cerca de 37%.

A probabilidade da fracção de células sobreviventes à dose D é dada pela equação 3.10 [24]:

$$S = \frac{N}{N_0} = e^{-\frac{D}{D_0}} \quad (3.10)$$

Curva sigmoide

As curvas do tipo sigmoide podem ser explicadas pelo modelo multizonas sensíveis/um só toque da teoria do alvo. As células são mais resistentes pois possuem duas ou mais zonas subletais, em que todas elas deverão ser atingidas pela radiação para que ocorra morte celular (figura 3.11) [24].

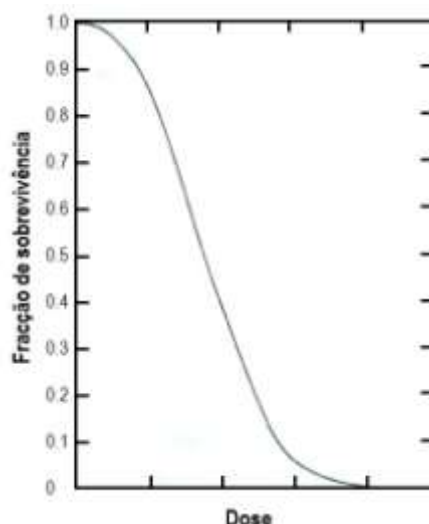


Figura 3.11 – Curva de sobrevivência do tipo sigmoide. Adaptado de [24].

A probabilidade de sobrevivência de uma célula com n zonas alvo a atingir é dada por [24]:

$$S = 1 - \left(1 - e^{-\frac{D}{D_0}}\right)^n \quad (3.11)$$

Onde:

- D - Dose aplicada;
- D_0 - Dose necessária para reduzir a população inicial para cerca de 37%;
- n – Número de zonas alvo a atingir.

O declive inicial da curva é nulo o que significa que para baixas doses não ocorre qualquer inativação celular. Quando é feita uma extrapolação da parte linear da recta sigmoide até ao eixo das ordenadas obtém-se o valor do número de zonas sensíveis subletais na célula [14].

Curva convexa

A curva convexa pode ser explicada através do modelo misto da teoria do alvo. Este tipo de curva é característico de células compostas por uma zona letal e por n zonas ditas subletais. A morte celular pode ocorrer ou por um único toque na zona letal ou por toques acumulados nas n zonas subletais (figura 3.12) [24].

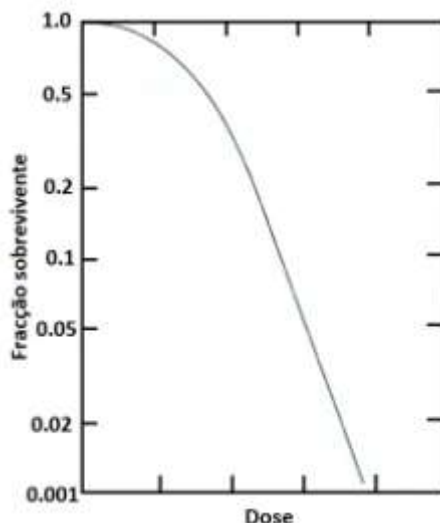


Figura 3.12 – Curva de sobrevivência do tipo convexa. Adaptado de [24].

Quando realizada a extrapolação da porção linear da curva até ao eixo das ordenadas é obtido o número de zonas subletais [24].

A probabilidade de sobrevivência de uma célula é dada pela equação 3.12 [24]:

$$S = e^{-\frac{D}{D_0}} \left[1 - \left(1 - e^{-\frac{D}{D_n}} \right)^n \right] \quad (3.12)$$

Onde:

- D – Dose aplicada;
- D_0 – Dose letal média para a região letal;
- D_n - Dose letal média para as zonas subletais.

Curva bifásica

Na figura 3.13 observa-se uma curva bifásica. Estas curvas verificam-se quando existem células com número diferentes de zonas letais a atingir, ou seja, radiosensibilidade diferente. Assim na fase inicial, quase exponencial, associam-se células sensíveis à radiação e, na fase curva final, células mais resistentes [14].

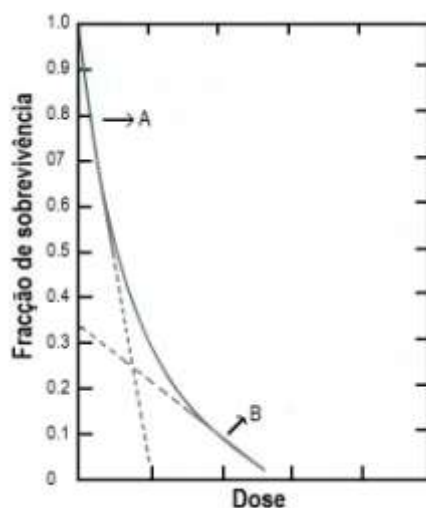


Figura 3.13 – Curva de sobrevivência bifásica. Adaptado de [24].

Esta curva é descrita pela equação 3.13 [23, 24]:

$$N = Ae^{-\frac{AD}{D_0}} + Be^{-\frac{BD}{D_0}} \quad (3.13)$$

Onde:

- A e B - Dois tipos de células diferentes;
- D - Dose aplicada;
- D_0 - Dose necessária para reduzir a população inicial para cerca de 37%.





Capítulo 4

4. Dosimetria

Tal como já foi referido, a incidência da radiação num dado material pode causar alterações químicas, físicas e biológicas. Estas alterações induzidas dependem não só do tipo de material como também do tipo e da quantidade de energia aplicada, e os seus efeitos podem só ser visíveis a longo prazo [5].

A dosimetria permite a quantificação da dose absorvida por consequência da exposição à radiação. Uma dose absorvida elevada poderá tornar o material inutilizável, ou no caso de estudo, alterar diversas características tal como o valor nutricional do alimento [18].

Assim, com a dosimetria é possível relacionar a incidência da radiação num dado material com as alterações nele provocadas. Para uma melhor compreensão de todo o processo foram definidas algumas grandezas físicas que descrevem o feixe de radiação incidente no produto [17]. Neste capítulo serão apresentadas algumas dessas grandezas bem como o tipo de dosimetria utilizada no trabalho.

4.1. Grandezas físicas

4.1.1. Fluência

A fluência é uma grandeza física que dá informação do número de partículas que incide perpendicularmente num material por unidade de área, vindo expressa em m^{-2} [17].

$$\Phi = \frac{dN}{dA} \quad (4.1)$$



4.1.2. Kerma

A grandeza física kerma está relacionada com radiações indirectamente ionizantes. Define-se como sendo a soma das energias cinéticas das partículas carregadas libertadas por partículas neutras (fotões e neutrões) por unidade de massa e expressa-se em Gray(Gy)= J/kg [17].

$$K = \frac{dE_c}{dm} \quad (4.2)$$

A energia cinética destas partículas carregadas não é, necessariamente, igual à energia transferida pela radiação incidente, visto também ser utilizada noutros processos.

Esta grandeza dosimétrica pode ainda ser dada como a soma do kerma colisional e do kerma radiativo que correspondem, respectivamente, à energia transferida dos electrões para o meio ao longo da sua trajetória e à transferência de energia por radiação de bremsstrahlung dos electrões [18].

$$K = K_{col} + K_{rad} \quad (4.3)$$

4.1.3. Dose absorvida e débito de dose

A dose absorvida por um dado material pode ser calculada a partir do quociente da energia depositada no material por unidade de massa.

$$D = \frac{dE}{dm} \quad (4.4)$$

Usualmente expressa-se em Gray (J/kg) [18].

O débito de dose é definido como a dose absorvida por unidade de tempo e expressa-se em Gy/h.

$$\dot{D} = \frac{dD}{dt} \quad (4.5)$$

4.2. Dosimetria de referência

Antes da sua utilização, os dosímetros de referência devem ser calibrados por dosímetros primários como a câmara de ionização. São considerados de alta precisão, apresentando uma incerteza entre o 1 e o 2%, sendo por norma aplicados como padrão de referência para calibração de outros dosímetros como os de rotina. O tipo de dosimetria mais



utilizado é a de Fricke, um dosímetro químico baseado na oxidação de sulfato ferroso após irradiação [13].

4.2.1. Dosimetria de Fricke

A dosimetria de Fricke é usada para a determinação de débitos de dose provenientes de fontes de radiação. Os íons ferrosos presentes na solução são oxidados pela radiação originando íons férricos com um pico de absorção na região ultravioleta a 305nm. A dose absorvida é proporcional à concentração de íons produzidos no final do processo [25].



O processo ocorre devido aos radicais livres, resultantes da interação da água com a radiação. São formados o radical hidroxilo $\cdot OH$ e átomo de hidrogénio $\cdot H$, que, ao reagirem com os íons ferrosos, originam íons férricos.

A solução de Fricke é uma solução sensível a impurezas e portanto é desaconselhado o uso de metais durante a sua preparação. No fim de preparada, deve ser armazenada num local protegido para não haver qualquer produção de íons férricos por parte de outras fontes, tais como a luz [25].

A solução de Fricke após irradiada é lida no espectrofotómetro a um comprimento de onda de 305nm. A dose absorvida, em Gy, é estimada a partir da equação 4.7:

$$D = \frac{\Delta OD \times 279,08}{[(1 + 0,007(25 - tl)) \times (1 + 0,0015(25 - ti))]} \quad (4.7)$$

Onde:

- ΔOD - média das leituras de absorvância lidas;
- tl - Temperatura quando realizada a leitura das absorvâncias;
- ti - Temperatura de irradiação.

Este dosímetro de referência possuiu como vantagens:

- Mecanismos de reação conhecidos;
- Equivalência à água e a tecidos biológicos relativamente às propriedades de absorção dos fotões e electrões;
- Preciso na determinação da dose absorvida;
- Estável antes e após irradiação.

Como desvantagens apresenta:

- Sistema limitado para a quantidade de dose absorvida (40 a 400Gy);
- Sensibilidade a qualquer interferência química.



4.3. Dosímetros de rotina

Os dosímetros de rotina são geralmente calibrados a partir de dosímetros de referência. São considerados instáveis por apresentarem variações significativas de lote para lote e variarem dependendo das condições ambientais [13].

4.3.1. Dosímetros de Polimetilmetacrilato (PMMA)

Os dosímetros de polimetilmetacrilato (PMMA) *Harwell Perspex*[®] são os dosímetros de rotina mais utilizados e são aplicados na maioria das vezes na esterilização de produtos médicos e nas instalações para fins industriais [26]. Existem 3 tipos que se distinguem por vários parâmetros tais como a gama de dose absorvida. As diferenças entre eles estão indicadas na tabela 4.1:

Tabela 4.1 - Características dos diferentes tipos de dosímetros de PMMA. Adaptado de [26].

Dosímetro	Gama de dose absorvida (kGy)	Comprimento de onda de leitura (nm)	Mudança de cor	Espessura (mm)
Red Perspex	5 - 50	640	Vermelho – Vermelho escuro	3
Amber Perspex	1 - 30	603 ≤ 10 kGy 651 >10 kGy	Âmbar - Castanho	3
Gammachrome YR	0.1 - 3	530	Amarelo - Vermelho	1.7

Os dosímetros de PMMA são amplamente utilizados devido ao fácil manuseamento e ao seu custo relativamente baixo, apresentando uma incerteza entre 3 e 5% [13, 27].

A leitura dos dosímetros é realizada num espectrofotômetro comparativamente com o ar, onde é medida a absorvância para o comprimento de onda característico de cada tipo de dosímetro. A dose absorvida é calculada a partir da equação de 4º grau:

$$D = A + B_1x + B_2x^2 + B_3x^3 + B_4x^4 \quad (4.8)$$

Onde:

- D – Dose absorvida;
- A, B_1, B_2, B_3, B_4 – Coeficientes de calibração;
- x – Absorvância específica, quociente entre a absorvância e espessura (cm^{-1}).



Capítulo 5

5. Qualidade de um alimento

A qualidade de um alimento pode ser avaliada segundo vários parâmetros, que podem também ser considerados essenciais para a aceitabilidade do alimento por parte do consumidor [28].

Existem quatro factores de qualidade a ter em conta para os alimentos [29]:

- Aparência – Cor, forma, tamanho;
- Textura;
- Sabor;
- Valores nutricionais.

De modo a preservar todas as características dos alimentos, é necessário ter em atenção diversos factores que podem alterar as suas qualidades.

- Temperatura – Uma temperatura mais elevada provoca um rápido detrimento do alimento;
- Luz – a luz provoca a oxidação de certos alimentos, causando, entre outros efeitos, a sua descoloração;
- Embalagem – Certas embalagens actuam como barreira de oxigénio, impedindo a oxidação dos alimentos.
- Atmosfera – O crescimento microbiano e consequentemente a deterioração do alimento pode ser reduzida com a presença de dióxido de carbono e baixa concentração de oxigénio.
- Armazenamento – O local de armazenamento dos alimentos deve reunir todas as condições necessárias para manter as qualidades dos produtos.



- Distribuição e transporte – Quando transportados e distribuídos diversas precauções devem ser tomadas. É necessário um cuidado especial de modo a evitar qualquer danificação no alimento ou nas embalagens que o transportam [30].

A qualidade de um alimento também pode estar em causa quando o sujeitamos à radiação, pois podem ocorrer alterações em alguns parâmetros de qualidade. É necessário aplicar uma dose onde não sejam verificadas alterações significativas para que o resultado final seja um alimento seguro e com qualidade.

No presente trabalho foram avaliadas as alterações na cor, no grau Brix e na textura. Determinou-se a capacidade antioxidante das cerejas e procedeu-se a uma análise sensorial com um painel de provadores não treinado.

5.1. Textura

A textura é um parâmetro de qualidade importante na aceitabilidade do produto por parte do consumidor, pois, tal como a cor, encontra-se associado à frescura do alimento. É definida como uma propriedade sensorial que pode ser obtida pelo consumidor através da sua visão, audição, tacto ou mastigação, estando relacionada com a estrutura macroscópica, microscópica e molecular do alimento. A avaliação da textura de um alimento consiste na análise de diversas características como a dureza (mole, firme ou duro) e gomosidade (farinhento ou pastoso) [31].

Existem equipamentos específicos, os texturómetros, para avaliar este parâmetro. Os ensaios, na maioria das vezes, baseiam-se na compressão ou penetração do produto, registando-se o seu comportamento face à força sobre ele exercida. Na figura 5.1 observa-se uma curva típica de um ensaio *Texture Profile Analysis* (TPA).

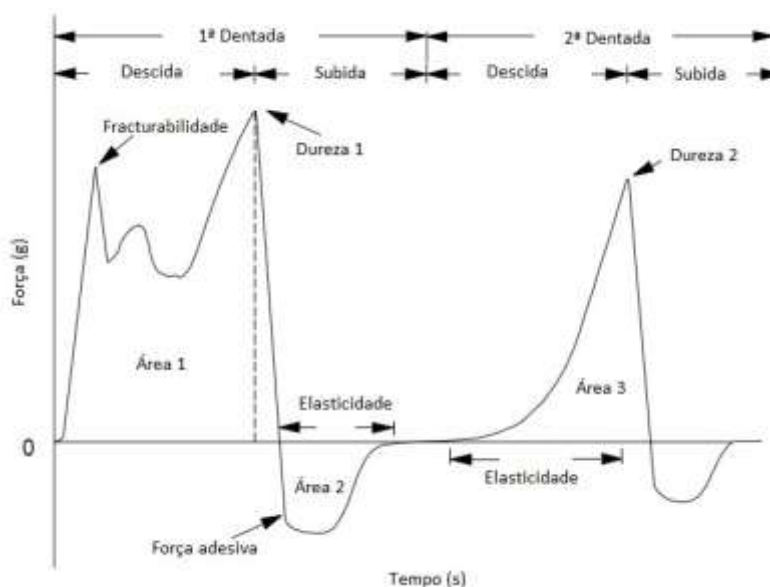


Figura 5.1 – Curva de ensaio típica em equipamentos de avaliação da textura (texturômetros). Adaptado de [32].

Este tipo de ensaio permite a avaliação simultânea de vários parâmetros em dois ciclos de deformação, simulando o processo mecânico da mastigação e deglutição [33]. Alguns dos parâmetros analisados são [32]:

- Fracturabilidade – Força necessária à fractura do material;
- Dureza – Força necessária de compressão por modo a obter a deformação desejada;
- Força adesiva – Força máxima negativa (força máxima de atracção);
- Módulo Aparente – Declive inicial da curva de deformação provocada pela força exercida;
- Adesividade – Área 2. Trabalho necessário para vencer as forças de atracção da superfície do alimento;
- Elasticidade – Percentagem de recuperação do material (plasticidade).

5.2. Cor

A cor é um dos parâmetros mais importantes para a aceitabilidade do alimento por parte de um consumidor pois muitas das vezes encontra-se associada à sua frescura e ao seu grau de maturação [34]. Relativamente às cerejas, a cor é considerado dos factores mais importantes, pois informa-nos acerca da sua qualidade e do seu estado de maturação [35].

Existem vários sistemas que explicam as diferentes cores pela relação entre a luminância e a cromaticidade. O sistema CIEL*a*b* tem sido bastante utilizado na avaliação das alterações provocadas na cor pelos mais diversos factores. Desenvolvido em 1976 pelo



International Commission on Illumination (CIE), este sistema indica a cor do alimento através de um vector tridimensional definido pelas coordenadas Lab (figura 5.2):

- L^* – Luminosidade. Os seus valores variam entre o preto (0%) e o branco (100%);
- a^* – Coordenada de cromaticidade. Assume a cor verde para valores negativos e vermelha para positivos;
- b^* – Coordenada de cromaticidade. É considerada a cor azul para valores negativos e a cor amarela em valores positivos.

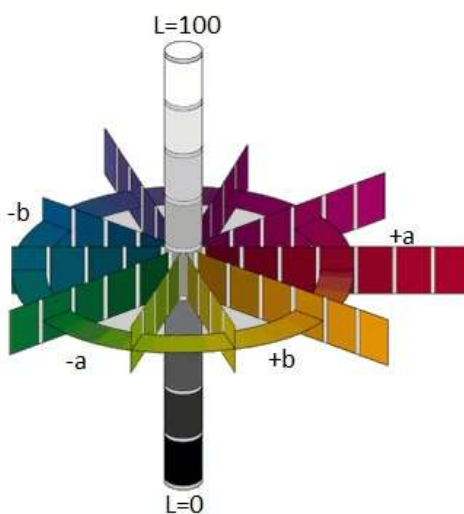


Figura 5.2 – Representação das coordenadas a^* , b^* e L^* .

Além das coordenadas já apresentadas, existem outras duas que podem ser calculadas a partir das anteriores [36]:

- C^* - Referente à pureza. Quanto maior for o seu valor mais brilhante é a cor;

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (5.1)$$

- H° - Referente à tonalidade é apresentado num ângulo de 0° a 360° . Entre 0° e 90° encontram-se os vermelhos, entre 90° e 180° os amarelos, entre 180° a 270° os verdes e por fim de 270° a 360° os azuis.

5.3. Grau Brix

A frescura e qualidade de certas frutas bem como o seu sabor e doçura estão relacionados com a quantidade de açúcar nelas presentes, existindo maioritariamente frutose, sacarose, glicose e sorbitol. De modo a determinar a qualidade das frutas, os agrónomos determinam o nível de açúcar durante o crescimento e amadurecimento construindo modelos de simulação de qualidade [37].



Importa referir que a quantidade de sólidos solúveis nas frutas depende de vários factores. No caso de cerejas a quantidade de açúcares está dependente do modo de cultivo, mas maioritariamente da presença de frutose e glicose [38].

Nos dias que correm existem equipamentos (refractómetros) que, de forma rápida e precisa, estimam os valores de açúcares dos produtos em análise [36].

Desenvolvido em 1870 pelo alemão Adolf Brix, a escala de Brix (°B) permite determinar a quantidade de sólidos solúveis em alimentos líquidos ou viscosos (compotas ou polpa de tomate), assumindo, na maioria das vezes, somente o açúcar como soluto dissolvido. Assim quando uma solução apresenta 25° Brix, contém cerca de 25g de açúcar e 75g de água em 100g de solução [39].

Esta escala tem uma vasta aplicação na indústria de cereja e vinhos bem como em algumas frutas para avaliar o grau de maturação quando a sua colheita [39].

5.4. Capacidade antioxidante

Um antioxidante é qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações comparativamente ao substrato oxidável, inibe a oxidação deste substrato [40].

Muitas doenças estão associadas à presença de radicais livres que, como já foi mencionado anteriormente, podem causar danos nas estruturas de ADN. Uma substância antioxidante tem a capacidade de inibir a acção dos radicais livres, também eles responsáveis pelos danos oxidativos dos lípidos, proteínas e ácidos nucleicos [41]. Assim, e apesar da capacidade antioxidante estar associada ao retardo do envelhecimento, alimentos com elevada capacidade antioxidante, nomeadamente frutas e vegetais, são muitas vezes recomendados a consumo, pois podem ajudar na prevenção de algumas doenças cardio e cerebrovasculares, consideradas como a maior causa de morte em Portugal [42].

A deterioração de alimentos está associada à formação de compostos potencialmente tóxicos que levam a alterações na cor, textura e sabor do próprio alimento, bem como nos seus valores nutricionais[43]. Indústrias alimentares recorrem à adição de substâncias antioxidantes para ajudar no retardamento da deterioração dos alimentos, pois são considerados um factor importante na prevenção de alterações nos parâmetros de qualidade, aumentando o seu tempo de vida útil [44].

5.4.1. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são substâncias presentes em diversas plantas, vegetais, frutas e sementes, caracterizando-se por apresentarem na sua constituição um anel aromático com um (fenóis) ou mais grupos de hidroxilo (polifenóis) [45, 46]. Os polifenóis, dependendo da



sua estrutura, podem ainda ser subdivididos em dez classes, sendo os mais comuns os ácidos fenólicos (30%) e os flavonóides (60%) [47].

A capacidade antioxidante de uma substância pode estar directamente relacionada com a quantidade total de compostos fenólicos. Uma maior quantidade destes compostos pode indicar uma maior capacidade antioxidante [48]. Os fenólicos podem apresentar poder antioxidante devido à sua capacidade em quelatar metais e inibir radicais livres. Como detêm diversas funções biológicas, antibacteriana, antiviral, antialérgica e anti-inflamatória, estão associados à prevenção de doenças como o cancro e aterosclerose [41, 49].

Os compostos fenólicos assumem também um papel importante na conservação de alimentos, pois têm influência nas suas propriedades sensoriais e organoléticas como a cor e o sabor [43]. Por esta razão, são alvo de uma vasta aplicação em corantes naturais e em geral em todos os alimentos processados [50].

5.5. Análise Sensorial

A análise sensorial é uma avaliação das características organoléticas dos alimentos baseada nas respostas de indivíduos a alimentos e que são percebidas pelos seus sentidos. Tem como principal objectivo medir o impacto criado no indivíduo pelas propriedades físicas do alimento e de que maneira o afecta em relação à sua preferência [51]. São avaliados diversos parâmetros como a cor e aroma, a aparência, a textura e o sabor.

O local onde é realizada a prova sensorial deve ser insonorizado, calmo, luminoso e livre de odores e distrações. Deve ainda ser ventilado e as paredes devem ser de cores claras de modo a não influenciar a análise do produto. [29].

A análise deve ser realizada por um painel composto por 3 a 10 pessoas treinadas comandadas por um chefe de painel. Os provadores devem ser seleccionados segundo as normas ISO 3972 de 1991 e ISO 8586-1 de 2001. Os provadores devem mostrar interesse na área, possuir boa capacidade de adaptação e memória. Durante a realização da prova, devem-se mostrar calmos e concentrados. A análise sensorial pode ser realizada por um painel de provadores não treinado e, quando assim acontece, o número de provadores deverá ser superior a 80 [29].



Capítulo 6

6. Materiais e Métodos

O objectivo inicial deste trabalho era o estudo da inactivação microbiana por radiação gama em alimentos, bem como a caracterização morfológica da microbiota no alimento sem tratamento e a sobrevivente após exposição à radiação.

Porém, foi dada a oportunidade de avaliar as alterações induzidas em alguns parâmetros de qualidade, obtendo-se assim um estudo mais completo. Assim, foram avaliadas as alterações induzidas ao nível da cor, da textura e do grau Brix. Procedeu-se também a uma análise sensorial com provadores não treinados, e relativamente às cerejas foi avaliada a sua capacidade antioxidante.

6.1. Amostras

Os alimentos estudados no trabalho foram as bolachas Oreo® e duas variedades de cerejas, Sweetheart e Burlat.

As bolachas Oreo® são comercializadas em todo o mundo, sendo consideradas a bolacha de eleição por muitas crianças. São fabricadas pela *Nabisco* e são compostas por duas bolachas de chocolate com um recheio de baunilha no meio. No presente estudo foram utilizados pacotes de bolachas Oreo® embalados com quatro bolachas adquiridas em superfícies comerciais.

As cerejas utilizadas no estudo foram gentilmente cedidas pela *Amplos Caminhos Lda.*, uma empresa situada no Fundão. Todas as cerejas analisadas foram armazenadas a 4°C até à sua análise.



Para cada alimento estudado, foram sempre realizadas duas amostras por dose para avaliar a reprodutibilidade do processo. No caso das bolachas Oreo® cada amostra era composta por uma bolacha. Nas cerejas cada amostra continha cerca de 50g de fruta.

Após irradiadas as amostras, foram colocadas num saco estéril de Stomacher onde foi adicionado 100ml de soro fisiológico com 0.1% tween80 para uma melhor remoção dos microrganismos dos alimentos estudados. De seguida, colocaram-se os sacos das amostras num *stomacher* (homogeneizador) durante 15 minutos no caso das cerejas, e 45 minutos para as bolachas Oreo®.

Após o tempo de homogeneização, foi feito o plaqueamento das amostras em placas de *petri* descartáveis com meio de cultura sólido e às respectivas diluições.

No final do plaqueamento, as placas foram incubadas à temperatura de 32°C durante 14 dias e foram realizadas contagens do número de colónias às 24, 48 e 72 horas e 5º, 7º e 14º dia.

Todo o trabalho efectuado para a avaliação da carga microbiana foi realizado numa câmara de fluxo laminar, onde eram colocadas 3 placas de controlo de meio sólido *Tryptic Soy Agar* (TSA) para identificar possíveis contaminações cruzadas.

6.2. Irradiação dos alimentos

6.2.1. Equipamento de Irradiação – Precisa 22

A irradiação das amostras foi efectuada na Precisa 22, uma câmara com quatro fontes de ^{60}Co localizada no campus Tecnológico e Nuclear. O equipamento é constituído por uma cavidade rectangular rodeada por aço inoxidável, onde as fontes estão localizadas ao fundo e em posição central. Dentro da câmara é colocado um suporte metálico constituído por quatro patamares que correspondem a diferentes níveis de irradiação. Nesse suporte é colocado um outro em madeira mais pequeno que pode ser encaixado em cada um dos níveis e que está dividido em vinte e sete posições num sistema de coordenadas de colunas (1-3) e linhas (A-I) [52].

No presente trabalho, a dosimetria de Fricke foi realizada no nível 2 para todas as colunas correspondentes às linhas A,B e C. As amostras dos alimentos foram irradiadas dentro de um recipiente de plástico no nível 2 que ocupava todas as colunas para as linhas A, B e C.

Na figura 6.1 pode ser visualizado o interior do equipamento de radiação utilizado e um esquema do suporte metálico.

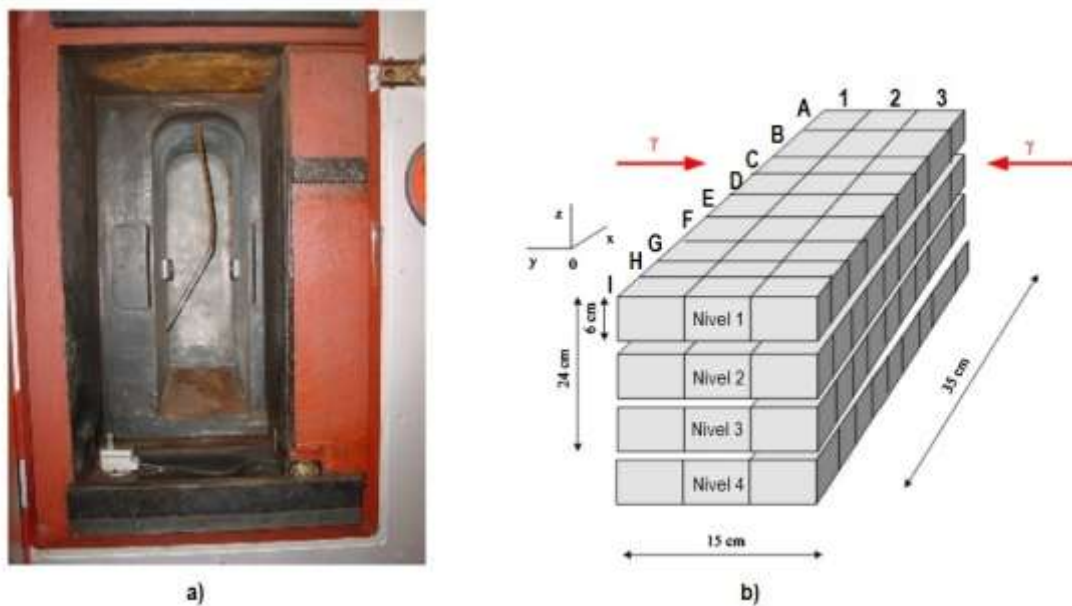


Figura 6.1 –a) Interior do equipamento de radiação utilizado, Precisa 22. b) Representação do suporte metálico com os respectivos níveis de irradiação. Adaptado de [52].

A figura 6.2 indica as dimensões do equipamento de radiação assim como a actividade das quatro fontes de ^{60}Co em Novembro de 2009.

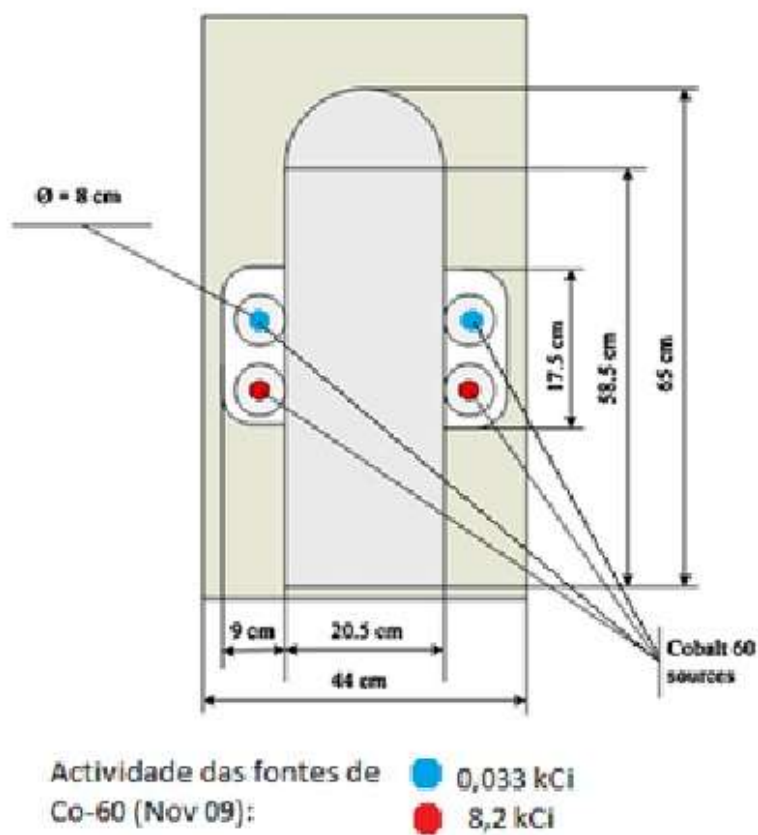


Figura 6.2 – Dimensões do equipamento de radiação, Precisa 22.



Actualmente, e devido ao decaimento das fontes, a actividade diminuiu. A tabela 6.1 indica a actividade em Novembro de 2009 e a actual das 4 fontes de ^{60}Co .

Tabela 6.1 - Actividade das fontes de cobalto.

Actividade - Novembro de 2009 (kCi)	Actividade - Março de 2012 (kCi)
0.033	0.024
8.2	5.96

A actividade actual foi calculada a partir da equação 6.1.

$$A = A_0 e^{-\frac{\ln(2)}{t_{1/2}} \times t} \quad (6.1)$$

Onde:

- A_0 - Actividade inicial da fonte;
- $t_{1/2}$ - Tempo de meia vida;
- t - Diferença entre o tempo actual e o inicial

6.2.2. Dosimetria de Fricke

A dosimetria de Fricke foi realizada de duas maneiras distintas com o intuito de estimar a taxa de dose nas posições a utilizar no estudo (nível 2, linhas A,B e C e colunas 1, 2 e 3). O protocolo de preparação da solução de Fricke encontra-se no anexo A.

Primeiramente foram irradiados 15ml de solução em frascos de pyrex nas nove posições e, da segunda vez, foram irradiados 15ml em três sacos de amilon[®] na geometria de irradiação escolhida para os alimentos e que ocupou as mesmas posições que as ocupadas na primeira (um saco para cada linha A, B e C). A dosimetria de Fricke foi realizada em três tempos diferentes: 2,5 e 7 minutos.

Imediatamente após cada irradiação foi medida com um multímetro a temperatura (t_i) e posteriormente realizaram-se leituras de absorvância da solução a um comprimento de onda de 305nm, utilizando um espectrofotómetro *Shimadzu UV 1800*. Foi feita para cada posição 3 leituras de absorvância. À medida que iam sendo feitas as várias leituras foi novamente medida a temperatura da solução (t_l), nos diferentes frascos. O multímetro utilizado foi *Mult Digital Fluke-179 (Fluke Corporation)*.

A dose obtida em cada posição foi calculada a partir da equação 6.2:

$$D = \frac{\Delta OD \times 279,08}{[(1 + 0,007(25 - t_l)) \times (1 + 0,0015(25 - t_i))]} \quad (6.2)$$

Onde:

- ΔOD - média das leituras de absorvância lidas;
- t_l - Temperatura quando realizada a leitura das absorvâncias;
- t_i - Temperatura de irradiação.



Para verificar a reprodutibilidade, cada dosimetria de Fricke foi realizada duas vezes.

6.2.3. Tempos de irradiação

Com os valores de dose obtidos na dosimetria de Fricke, calculou-se as respectivas taxas de dose para cada posição e estimou-se o tempo de irradiação para as amostras de bolachas Oreos[®], o primeiro alimento alvo de estudo.

A tabela 6.2 apresenta o tempo estimado pelas taxas de dose obtidas a aplicar nos alimentos de estudo para cada dose pretendida.

Tabela 6.2 – Tempo estimado a aplicar nos alimentos para se obter a dose pretendida.

Amostra	Dose Pretendida (kGy)	Tempo estimado de irradiação (hh:mm:ss)
Oreos [®]	2,0	01:09:36
	5,0	02:50:24
	8,0	03:56:24
Cerejas – Burlat	0,5	00:16:54
	1,5	00:50:41
	2,5	01:24:28
Cerejas - Sweetheart	1,5	00:44:45
	2,5	01:14:35
	5,0	02:29:11

De notar, que no caso das bolachas Oreos[®], as amostras às diferentes foram irradiadas ao mesmo tempo, ocupando cada amostra uma linha do suporte.

6.2.4. Dosímetros de rotina

Tal como já foi referido as amostras foram irradiadas num recipiente de plástico com 18 cm de comprimento, 10,5 cm de largura e 6 cm de altura. Os dosímetros utilizados, *Amber Perspex*, foram sempre colocados no fundo do recipiente.

Na figura 6.3 encontra-se a orientação dos dosímetros de PMMA utilizada na dosimetria de Fricke, realizada na geometria de irradiação empregada no estudo.

Na figura 6.4 encontra-se indicada a orientação dos dosímetros de PMMA quando irradiadas as amostras.



Figura 6.3 – Orientação dos dosímetros de PMMA escolhida para a dosimetria de Fricke realizada na geometria de irradiação utilizada.



Figura 6.4- Orientação dos dosímetros PMMA utilizados na irradiação das amostras na geometria de irradiação utilizada.

A leitura dos dosímetros foi realizada num espectrofotômetro *Shimadzu UV 1800* e as suas espessuras medidas através de um micrômetro *Mitutoyo*. Os coeficientes de calibração para o lote de dosímetros usados estão indicados na tabela 6.3 e foram determinados anteriormente pelo Grupo de Tecnologias de Radiação: Processos e Produtos (GTRPP).

Tabela 6.3 – Coeficientes de calibração utilizados no cálculo da dose absorvida utilizando dosímetros de rotina.

Coeficiente	Calibração 603nm	Calibração 651 nm
	Harwell 05/2009	Harwell 05/2009
A	0,221	0,364
B ₁	2,07	2,85
B ₂	0,132	0,771
B ₃	-0,0108	-0,172
B ₄	0,00241	0,0269



No anexo B pode ser visualizado o procedimento utilizado na leitura dos dosímetros.

6.3. Avaliação da carga microbiana

Foi desenvolvida uma metodologia para a determinação da carga microbiana das bolachas Oreo® e das cerejas. De modo a validar e otimizar o procedimento desenvolvido, procedeu-se à contaminação artificial das amostras com suspensões bacterianas de *Bacillus subtilis*. A contaminação foi realizada em bolachas Oreo®, onde foi injectado 0.5ml de uma solução mãe de *Bacillus subtilis*, bactérias gram positivas, esporuladas e com flagelos [53, 54].

A solução mãe consistiu numa suspensão bacteriana de *Bacillus subtilis* de 10ml de soro fisiológico. A concentração inicial de microrganismos presentes na solução foi estimada a partir da contagem ao microscópio utilizando uma câmara de *Neubauer*. Esta é composta por uma lâmina de vidro com uma superfície quadriculada separada em duas zonas por um sulco horizontal e limitadas de cada lado por um canal vertical. A superfície quadriculada é composta por nove quadrados com 1mm de lado. O quadrado central é composto por 25 quadrados mais pequenos tal como pode ser observado na figura 6.5 [55].

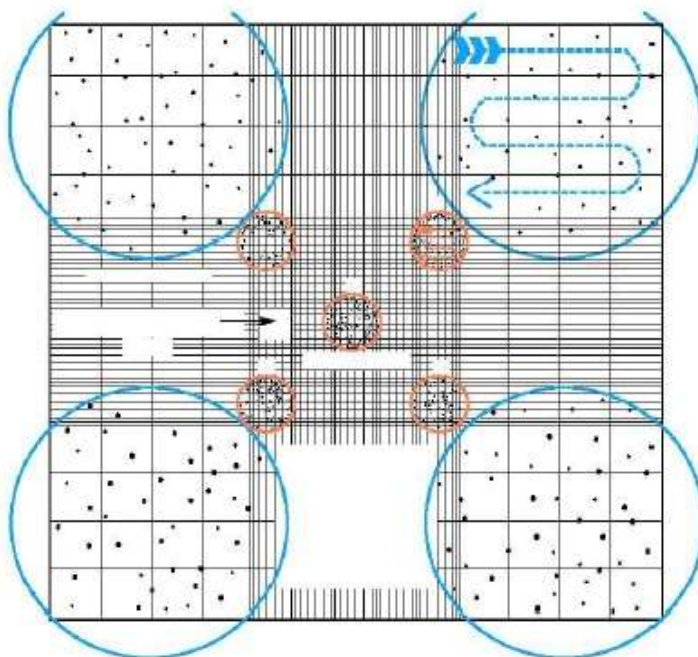


Figura 6.5 – Representação da câmara de *Neubauer* para a contagem de colónias. Adaptado de [55].

São escolhidos 5 quadrados de duas zonas diferentes para as contagens. No trabalho realizado foi utilizada uma câmara de *Neubauer W-Germany* com 0.1mm de altura e de área $\frac{1}{400} \text{ mm}^2$. O número de células por unidade de volume foi calculado com base na expressão 6.3.

$$[X] = \frac{\bar{X}}{2.5 \times 10^{-7}} \quad (6.3)$$



Onde \bar{X} é a média aritmética do número de células contadas nos 10 quadrados. O procedimento utilizado pode ser visualizado no Anexo C.

A partir desta estimativa foi inoculado no alimento uma quantidade definida de células de *Bacillus subtilis* para avaliar a eficiência do método de determinação da carga microbiana.

Esta metodologia foi realizada diversas vezes com o intuito de a validar e otimizar. O valor máximo de eficiência obtido no processo desenvolvido foi de 88% calculado a partir da equação 6.4:

$$Eficiência = \frac{N}{N_0} \times 100\% \quad (6.4)$$

Onde:

- N - Número de unidades formadoras de colônias, ufc, obtidas nas contagens das placas após contaminação
- N_0 - Número de ufc referentes ao inóculo de solução mãe utilizado na contaminação artificial.

6.3.1. Quantificação das unidades formadoras de colônias (ufc)

O número de microrganismos presentes foi estimado a partir de contagens efectuadas do plaqueamento realizado em meio sólido TSA. O plaqueamento de uma solução consiste no espalhamento de 0,1 ou 1ml dessa solução em placas de TSA para bactérias e *Potato Dextrose Agar* (PDA) para fungos (figura 6.6).

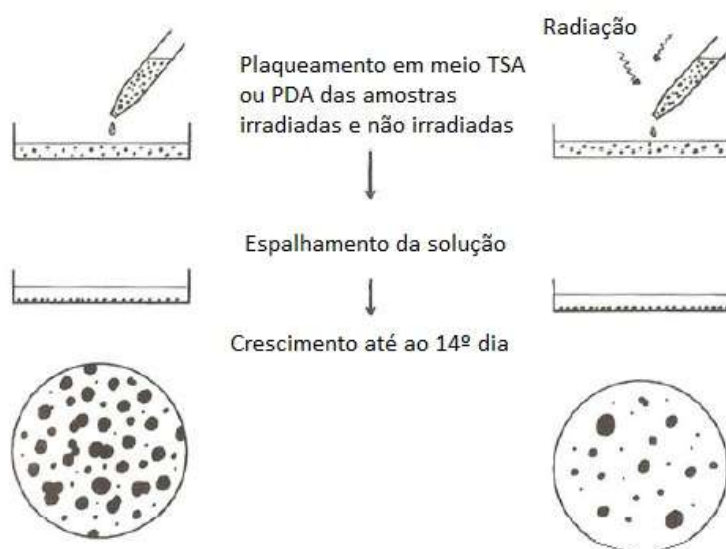


Figura 6.6 - Esquema do método utilizado para a contagem de microrganismos. Adaptado de [14].

De maneira a ser obtido um número contável de unidades formadoras de colônias em cada placa, entre 30 a 300, é por vezes necessário diluir a solução.



As diluições realizadas neste trabalho foram de 1/10, através da adição de 1ml da nossa solução a 9ml de soro fisiológico.

Foram efectuados plaqueamentos de duas diluições diferentes e para cada diluição foram realizados 3 plaqueamentos (6 réplicas).

6.3.2. Caracterização morfológica

Foi efectuada a caracterização morfológica da microbiota inicial e sobrevivente após irradiação dos alimentos estudados. Os microrganismos a caracterizar foram isolados em cultura pura em placas de TSA para bactérias e PDA para fungos. Os isolamentos efectuados foram incubados a 28°C no caso de fungos e 32°C para bactérias.

Foi realizada uma análise macroscópica quanto à morfologia das colónias (pigmentação, textura, opacidade, forma, elevação e margem) e microscópica ao nível da morfologia celular (cocos/bacilos e respectivo agrupamento). Foram ainda realizados a coloração Gram e testes bioquímicos para a verificação da existência das enzimas catalase e oxidase. Os procedimentos utilizados podem ser vistos no Anexo D.

6.4. Factores de Qualidade

A avaliação dos parâmetros cor, textura e grau Brix foi realizada no Instituto Politécnico de Santarém – Escola Superior Agrária.

6.4.1. Cor, textura e grau Brix

O parâmetro cor foi avaliado através de um colorímetro conectado ao *software Spectramagic NX*, onde foram obtidas as diferentes coordenadas do sistema CIEL*a*b*. O grau Brix foi obtido por um refractómetro de *abbe*.

Para a análise da textura, foi utilizado um texturómetro *Stevens QTS - 25* conectado ao *software TexturePro*. Trata-se de um instrumento de bancada constituído por um braço que se desloca na vertical e onde são colocadas diferentes sondas consoante o objectivo pretendido. O tipo de teste realizado nas bolachas Oreo® foi de compressão e nas cerejas de penetração. Em ambos os alimentos, a avaliação da textura foi efectuada com um só ciclo (a agulha só penetrou uma vez o alimento). Nas cerejas a sonda perfurou cerca de 8mm a uma velocidade de 3 mm/min e nas bolachas Oreo® para a sonda de compressão foi programada uma velocidade de 100mm/min.

Os dados obtidos para a cor, grau Brix e textura foram analisados estatisticamente no programa *OriginPro 8*. Os testes estatísticos utilizados foram o teste *Kruskal-Wallis* e o *Holm-*



Bonferroni para um nível de significância de 0,05. No anexo E encontram-se os protocolos utilizados para a avaliação destes três parâmetros.

6.4.2. Capacidade Antioxidante

A avaliação da capacidade antioxidante das amostras de cerejas foi realizada a partir da utilização do reagente FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). O método é baseado na capacidade que os compostos antioxidantes possuem em reduzir o complexo férrico-tripiridiltiazina (Fe^{3+} -TPTZ) a ferroso-tripiridiltiazina (Fe^{2+} -TPTZ). Quando se verifica esta reacção é observada uma cor azul intensa na solução que é lida num espectrofotómetro a um comprimento de onda 593 nm [56].

O conteúdo em fenólicos totais foi determinado pelo método de *Folin-Ciocalteu*. Este método é bastante utilizado na quantificação de compostos fenólicos devido à sua simplicidade e facilidade de concretização. Baseia-se na capacidade que os fenólicos têm em reduzir os ácidos fosfomolibdico e fosfotúngstico em compostos detectáveis espectrofotometricamente a um comprimento de onda de 765nm. Trata-se de uma reacção de oxidação-redução não particularizada para compostos fenólicos e que ocorre em meio alcalino devido à adição de carbonato de sódio [57].

Foram utilizados como padrões na construção das rectas de calibração o ácido gálico e o ácido ascórbico devido à sua elevada capacidade antioxidante. Os resultados foram expressos em miligrama de equivalentes de ácido gálico (mg GAE) e miligrama de equivalentes de ácido ascórbico (mg AAE) por 100g de massa fresca, para uma correcta comparação com a literatura.

As amostras foram preparadas em 10ml de extrato metanólico para uma melhor extracção dos compostos e os procedimentos utilizados encontram-se no Anexo F.

6.4.3. Análise Sensorial

A análise sensorial foi realizada por um painel não treinado de provadores no Instituto Tecnológico e Nuclear.

A análise sensorial apenas foi realizada para as bolachas Oreo® e para a variedade Sweetheart de cerejas. Os testes de aceitabilidade entregues ao painel de provadores podem ser visualizados no Anexo G.

No teste de aceitabilidade a escala de classificação aplicada foi de 1 a 5, sendo 1 correspondente a muito desagradável e 5 a muito agradável.



Capítulo 7

7. Resultados e Discussão

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os resultados obtidos no estudo efectuado. Inicialmente serão evidenciados os resultados referentes à dosimetria de Fricke, para a determinação dos débitos de dose das posições a utilizar na Precisa 22. Posteriormente serão apresentadas as curvas de sobrevivência referentes à contaminação artificial das bolachas Oreos[®] bem como os gráficos de inactivação da microbiota natural dos referidos produtos. Serão também referidas as diferenças existentes ao nível da textura, cor e grau Brix para as diferentes doses e as alterações obtidas ao nível da capacidade antioxidante. Por fim, serão discutidos os resultados da análise sensorial efectuada para os alimentos estudados. A discussão dos diferentes alimentos será feita separadamente para uma melhor organização do trabalho.

7.1. Dosimetria de Fricke

Tal como já foi referido anteriormente, as irradiações foram realizadas na fonte de ^{60}Co , Precisa 22, no nível 2 e nas posições A1-3, B1-3 e C1-3. Para a dosimetria de Fricke, através dos valores obtidos de absorvâncias calculou-se as doses obtidas em cada posição a partir da equação 6.2. Na tabela 7.1 estão indicados os resultados obtidos para cada posição na primeira dosimetria de Fricke, onde a solução foi irradiada em frascos de pyrex. O valor do débito de dose corresponde ao valor do declive da recta.



Tabela 7.1- Rectas e coeficientes de correlação obtidos para as diferentes posições de irradiação no nível 2, obtidas por dosimetria de Fricke.. Estão também indicados os respectivos débitos de dose (kGy) e erros padrão do declive da recta para todas as posições.

Nível	Posição	Rectas	Coeficiente de correlação	Débito de dose (kGy) \pm erro padrão
2	A1	$y = 2,3045x + 0,0077$	$R^2 = 0,9992$	$2,3045 \pm 0,0007$
		$y = 2,4245 - 0,0012$	$R^2 = 0,9997$	$2,4245 \pm 0,0005$
	A2	$y = 1,9654x + 0,0054$	$R^2 = 0,9983$	$1,9654 \pm 0,0012$
		$y = 1,9532x + 0,0005$	$R^2 = 0,9996$	$1,9532 \pm 0,0006$
	A3	$y = 2,5327x + 0,0022$	$R^2 = 0,9974$	$2,5327 \pm 0,0012$
		$y = 2,3706 - 0,013$	$R^2 = 0,9994$	$2,3706 \pm 0,0006$
	B1	$y = 2,7341x + 0,0014$	$R^2 = 0,9999$	$2,7341 \pm 0,0002$
		$y = 2,7137 - 0,0014$	$R^2 = 1$	$2,71370 \pm 0,00004$
	B2	$y = 2,1029x + 0,0032$	$R^2 = 1$	$2,1029 \pm 0,0001$
		$y = 2,0895 - 0,0013$	$R^2 = 1$	$2,0895 \pm 0,0002$
	B3	$y = 2,9089x + 0,0035$	$R^2 = 0,9989$	$2,9089 \pm 0,0007$
		$y = 2,7599 - 0,008$	$R^2 = 0,9991$	$2,7599 \pm 0,0006$
	C1	$y = 2,424x + 0,0012$	$R^2 = 0,9992$	$2,4240 \pm 0,0007$
		$y = 2,3497 - 0,0057$	$R^2 = 0,9999$	$2,3497 \pm 0,0002$
	C2	$y = 1,9019x + 0,0042$	$R^2 = 0,9991$	$1,9019 \pm 0,0009$
		$y = 1,9278 - 0,0009$	$R^2 = 0,9993$	$1,9278 \pm 0,0008$
	C3	$y = 2,3722x + 0,001$	$R^2 = 0,999$	$2,4811 \pm 0,0008$
		$y = 2,3722 - 0,0052$	$R^2 = 0,999$	$2,3722 \pm 0,0008$

O valor médio de débito de dose para cada posição foi calculado através da média aritmética dos dois valores obtidos para cada posição e encontra-se apresentado na tabela 7.2.

Tabela 7.2 - Débitos de dose obtidos (kGy) para as diferentes posições de irradiação e respectivos erros padrão.

Nível	Posição	Débito de dose (kGy/h) \pm erro padrão
2	A1	$2,36 \pm 0,06$
	A2	$1,96 \pm 0,01$
	A3	$2,45 \pm 0,08$
	B1	$2,72 \pm 0,01$
	B2	$2,10 \pm 0,01$
	B3	$2,83 \pm 0,07$
	C1	$2,39 \pm 0,04$
	C2	$1,91 \pm 0,01$
	C3	$2,43 \pm 0,05$



Observando a tabela 7.2 verifica-se que é na posição B que se obtém um maior débito de dose, e que para a posição central (coluna 2) este valor é mais baixo comparativamente aos valores das extremidades (coluna 1 e 3). Estes valores podem ser explicados pelo facto de a radiação ir atenuando à medida que atravessa o material.

A segunda dosimetria de Fricke foi realizada na geometria de irradiação escolhida para a irradiação dos alimentos. Assim, como foi referido no capítulo 6, foram irradiados 15ml de solução de Fricke em sacos de amilon[®], uma para cada linha (A, B e C). A tabela 7.3 indica os resultados obtidos para cada posição.

Tabela 7.3 -- Rectas e coeficientes de correlação obtidos para as diferentes posições de irradiação no nível 2, obtidas por dosimetria de Fricke (linhas A, B e C). Estão também indicados os respectivos débitos de dose (kGy) e erros padrão do declive da recta para todas as posições.

Nível	Posição	Rectas	Coeficiente de correlação	Débito de dose (kGy) \pm erro padrão
2	A	$y = 1,7328x + 0,0219$	$R^2 = 0,998$	$1,7328 \pm 0,0015$
		$y = 1,6961x + 0,0162$	$R^2 = 0,9945$	$1,6961 \pm 0,0026$
	B	$y = 2,0323x + 0,0164$	$R^2 = 1$	$2,0323 \pm 0,0002$
		$y = 2,0342x + 0,0109$	$R^2 = 1$	$2,0342 \pm 0,00004$
	C	$y = 1,7782x + 0,0099$	$R^2 = 0,9988$	$1,7782 \pm 0,0012$
		$y = 1,7344x + 0,0075$	$R^2 = 0,9964$	$1,7344 \pm 0,0021$

Tal como para a primeira dosimetria, o valor médio de débito de dose para cada posição foi calculado através da média aritmética dos dois valores obtidos para cada posição e encontram-se apresentados na tabela 7.4.

Tabela 7.4 – Débitos de dose obtidos nas diferentes posições de irradiação e respectivos erros padrão.

Nível	Posição	Débito de dose (kGy/h)
2	A	$1,714 \pm 0,018$
	B	$2,032 \pm 0,001$
	C	$1,756 \pm 0,022$

O valor médio de débito de dose obtido é maior para a posição B. Os valores obtidos mostram-se assim concordantes não só com a primeira dosimetria efectuada mas também com dosimetrias anteriores e com o posicionamento central (posição B) das fontes de cobalto com maior actividade.



Os débitos de dose obtidos foram, posteriormente, usados para estimativa do tempo de irradiação tendo em conta a dose de radiação pretendida e o decaimento das fontes.

7.2. Desenvolvimento da metodologia

Foi desenvolvida uma metodologia para avaliar a inativação da carga microbiana nos alimentos estudados por parte da radiação que consistiu, como já foi referido anteriormente, na contaminação artificial de bolachas Oreo® com uma concentração conhecida de *Bacillus subtilis*.

Depois de otimizado o processo, procedeu-se à irradiação das bolachas contaminadas. A irradiação foi realizada duas vezes, teste 1 e teste 2, de modo a avaliar a reprodutibilidade do processo. Os tempos de dose aplicados no teste 1 foram calculados com base nos débitos de dose obtidos com a dosimetria de Fricke e do teste 2 com base nos débitos de dose obtidos no primeiro teste. Na tabela 7.5 estão descritos esses tempos bem como as doses previstas a aplicar e as doses reais obtidas calculadas a partir da leitura dos dosímetros de rotina.

Tabela 7.5 – Dose prevista a aplicar, tempo estimado de irradiação e dose real obtida para os dois testes.

Dose prevista (kGy)	Teste 1		Teste 2	
	Tempo de irradiação hh:mm:ss	Dose obtida (kGy)	Tempo de irradiação hh:mm:ss	Dose obtida (kGy)
2	01:09:36	1.62	01:28:34	3,05
5	02:50:24	4.78	03:02:36	5,40
8	03:56:24	8.22	03:56:13	7,98

As curvas de inativação obtidas para os dois testes podem ser visualizadas na figura 7.1, onde a barra de erro associada a cada ponto foi calculada a partir do intervalo de confiança considerando um nível de significância de 0,05.



Curvas de sobrevivência - Testes 1 e 2

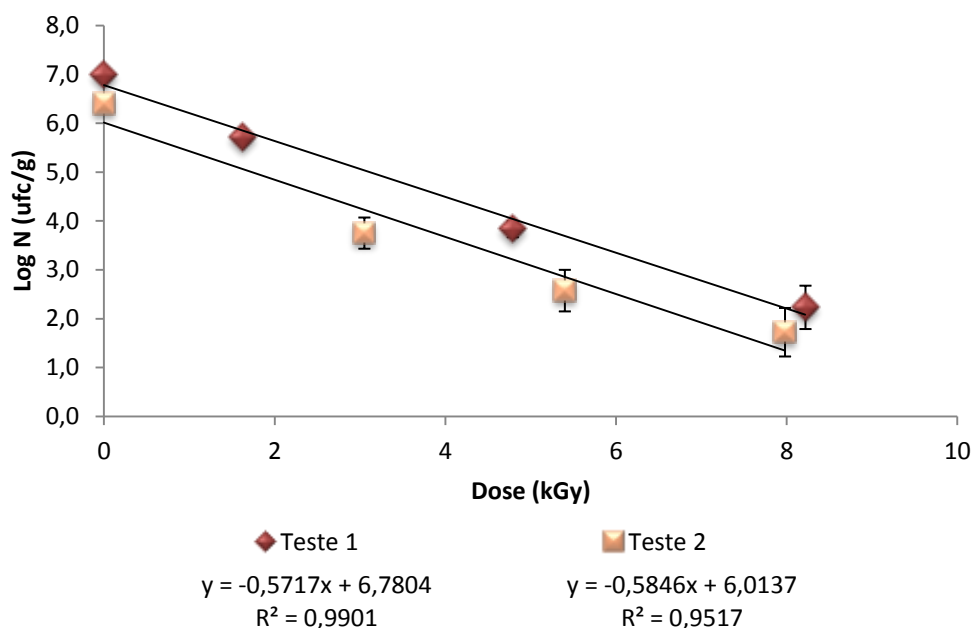


Figura 7.1 – Curva de inativação microbiana obtida pela irradiação de bolachas Oreo® inoculadas artificialmente com *Bacillus subtilis* referente aos testes 1 e 2. Encontram-se também indicados os intervalos de confiança para cada ponto (n=6 e $\alpha=0,05$).

Os resultados obtidos indicam uma inativação microbiana exponencial, embora no primeiro teste seja visível uma melhor correlação entre os pontos obtidos.

O valor de D_{10} pode ser obtido através do módulo do inverso do declive da recta de sobrevivência. Na tabela 7.6 estão indicados os valores obtidos.

Tabela 7.6 - Valores de D_{10} (kGy) estimados para a população de *Bacillus subtilis* inoculada artificialmente nas bolachas Oreo®.

	Teste 1	Teste 2
D_{10}	1,75	1,71

Os valores obtidos estão concordantes com a literatura, onde citam valores de D_{10} entre 1,43 e 3,42 kGy para o microrganismo estudado (*Bacillus subtilis*). Note-se que os valores variam consoante o tipo de substrato utilizado. [58].

7.3. Irradiação das amostras

Inicialmente avaliou-se a carga microbiana natural presente nos alimentos, concluindo-se que o nível de contaminação das bolachas Oreo® é bastante baixo tal como a carga microbiana natural encontrada na variedade Burlat de cerejas. Já na variedade Sweetheart, o nível de carga microbiana encontrado foi ligeiramente superior.



7.3.1. Bolachas Oreo®

7.3.1.1. Inativação da carga microbiana

Segundo a avaliação inicial, a carga microbiana natural presente nas bolachas Oreo® foi de 60,68 ufc/g de bolacha. Por modo a inativar a carga natural das bolachas Oreo®, estas foram irradiadas a diferentes doses. Note-se que as doses obtidas nas irradiações encontram-se muito perto das estimadas. Na figura 7.2 é possível visualizar a curva de inativação obtida da população contaminante natural após irradiação, onde a barra de erro associada a cada ponto foi calculada a partir do intervalo de confiança considerando um nível de significância de 0,05. É importante referir que na avaliação da carga microbiana nas bolachas apenas foi usado meio de cultura TSA para população mesófila total.

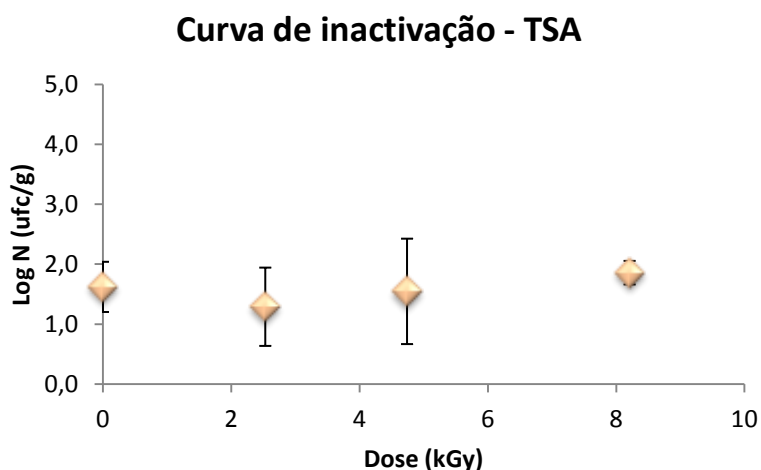


Figura 7.2 – Curva de inativação microbiana da população mesófila total das bolachas Oreo®. Encontram-se também representados os intervalos de confiança para cada ponto ($n \leq 6$ e $\alpha = 0,05$).

Os resultados obtidos mostram que não ocorre inativação microbiana para a gama de doses aplicada (≈ 2 a 8 kGy). Estes resultados podem estar relacionados com a baixa carga microbiana das bolachas bem como com o tipo de microrganismos que contaminam este produto.

Assim, a microbiota natural e sobrevivente das bolachas foi caracterizada morfológicamente ($n=60$) de forma a avaliar o padrão de contaminação antes e após irradiação. A tabela 7.7 indica a frequência relativa em percentagem de cada tipo morfológico de microrganismos.



Tabela 7.7 – Frequência relativa dos tipos de microrganismos isolados (n=60) antes e após irradiação nas bolachas Oreo®.

Tipificação fenotípica	Dose (kGy)			
	0	2,53	4,74	8,21
Cocos gram positivo, catalase positiva	60	100	50	0
Cocos gram negativo, catalase negativa	10	0	0	0
Bacilos gram negativo, oxidase negativa	30	0	0	0
Fungos filamentosos	0	0	50	100

Observando a tabela 7.7, nas bolachas não irradiadas os microrganismos existentes são apenas bactérias, que com o aumento da dose vai sendo notória a sua inativação. Às doses mais elevadas, 4,74 e 8,21 kGy, foi observado o aparecimento de fungos filamentosos. Este resultado poderá dever-se ao efeito de diluição, ou seja, para 0 e 2,53 kGy foi necessário efectuar diluições para obter um número contável de microrganismos. Consequentemente, apenas os microrganismos mais frequentes foram obtidos, nomeadamente as bactérias. Isto não invalida que os fungos filamentosos não estivessem presentes nas bolachas às doses mais baixas, mas apenas em pequeno número. Com o aumento da dose obtida as bactérias, geralmente mais sensíveis são inactivadas e os microrganismos menos frequentes e mais resistentes, como o caso dos fungos filamentosos, prevalecem.

7.3.1.2. Factores de Qualidade

Textura

Um parâmetro avaliado no estudo e crítico para a aceitação do consumidor é a textura. Para cada dose, foram avaliados os factores módulo aparente, fracturabilidade, dureza, força adesiva e adesividade. A tabela 7.8 indica os valores médios obtidos com o respetivo erro padrão associado.

Tabela 7.8 – Valores médios obtidos para os diferentes parâmetros da textura avaliados para as bolachas Oreo® não irradiadas e irradiadas. Encontram-se também indicados os erros padrão de cada valor (n=3).

Dose (kGy)	Módulo Aparente (N/s)	Fracturabilidade (N)	Dureza (N)	Força Adesiva (N)	Adesividade (N.s)
0	53,78 ± 25,11	6,95 ± 0,40	18,13 ± 0,30	-0,05 ± 0,02	-0,010 ± 0,006
2,53	60,57 ± 23,68	11,72 ± 2,42	15,98 ± 1,86	-0,10 ± 0,01	-0,033 ± 0,003
4,74	75,28 ± 15,63	6,01 ± 5,18	18,12 ± 2,69	-0,07 ± 0,01	-0,020 ± 0,010
8,21	66,91 ± 15,47	8,34 ± 4,17	14,05 ± 0,80	-0,09 ± 0,02	-0,037 ± 0,012

Observa-se um decréscimo para os valores do parâmetro dureza para a dose mais elevada comparativamente às restantes. Em relação à adesividade, visualiza-se uma ligeira



diminuição para a dose 8,21 kGy em relação à não irradiada. Quanto à fracturabilidade, o valor mais baixo observa-se na dose 4,74 kGy, que está muito perto do valor de 0 kGy. O valor mais alto é observado para a dose 2,53 kGy que indica uma maior rigidez da bolacha. Para este parâmetro não são apresentados os valores da análise estatística visto não serem muito coerentes.

Cor

A cor foi um outro dos parâmetros avaliados e que igualmente à textura pode ser determinante para a aceitabilidade do consumidor. A avaliação apenas foi efectuada para a bolacha não tendo sido avaliado o recheio. Os valores das coordenadas CIEL*a*b* podem ser visualizados na tabela 7.9, onde também estão indicados os respectivos erros padrão.

Tabela 7.9 – Valores médios obtidos para as coordenadas do sistema CIEL*a*b* avaliadas nas bolachas Oreó® não irradiadas e irradiadas. Encontram-se também indicados os erros padrão de cada valor (n=5). Os valores que apresentam letras iguais não são considerados significativamente diferentes (p>0,05).

Dose (kGy)	L*	a*	b*	C*	H°
0	19,99 ^a ± 0,28	3,10 ^a ± 0,04	2,38 ^a ± 0,03	3,91 ^a ± 0,05	37,56 ^a ± 0,03
2,53	20,14 ^a ± 0,32	3,23 ^a ± 0,05	2,47 ^a ± 0,07	4,07 ^a ± 0,07	37,43 ^a ± 0,51
4,74	20,19 ^a ± 0,30	3,25 ^a ± 0,10	2,48 ^a ± 0,13	4,09 ^a ± 0,16	37,30 ^a ± 0,66
8,21	20,61 ^a ± 0,24	3,57 ^b ± 0,04	2,88 ^a ± 0,05	4,59 ^b ± 0,07	38,97 ^a ± 0,27

De modo geral, e excluindo o parâmetro H°, os valores obtidos para as diferentes coordenadas aumentam com a dose. Segundo a análise estatística efectuada, na sua maioria, os valores para cada coordenada não são considerados significativamente diferentes entre si, com excepção dos valores dos parâmetros a* e C* obtidos para a dose mais elevada de 8,21 kGy. Apesar de serem estatisticamente diferentes, as diferenças a olho nu não foram notórias devido à cor muito escura das bolachas. Os valores baixos obtidos nas coordenadas de cromaticidade indicam essa escuridão.

Análise Sensorial

A análise sensorial das bolachas Oreó® foi realizada por 6 provadores não treinados, onde foram avaliadas as características: cor da bolacha, cor do recheio, odor, sabor, doçura, crocante, rigidez e intenção de compra. Os resultados obtidos podem ser observados na figura 7.3. Para esta avaliação foi irradiado um outro lote de bolachas Oreó® às doses 2,7, 6,23 e 8,77 kGy.



Análise sensorial - Variação de parâmetros

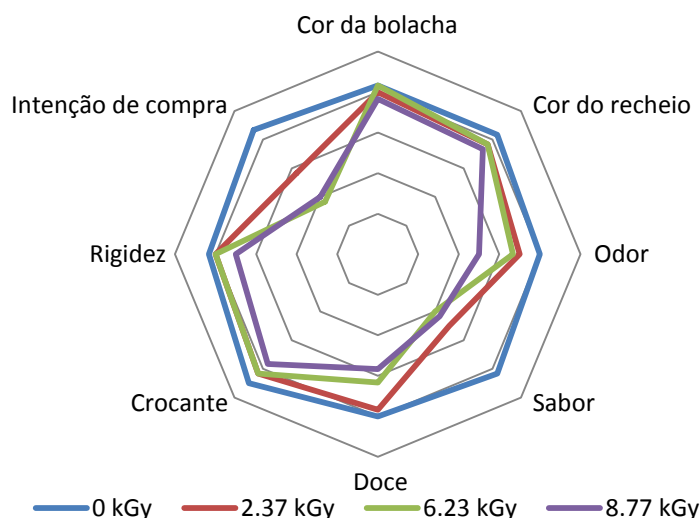


Figura 7.3 – Gráfico radar da análise sensorial efectuada às bolachas Oreó® não irradiadas e irradiadas. O centro corresponde ao zero e a extremidade à pontuação máxima 5.

A bolacha não irradiada é a que apresenta uma pontuação mais elevada. A diferença mais discrepante entre valores foi no parâmetro sabor e intenção de compra, onde é notória uma pontuação elevada para a bolacha não irradiada e menor pontuação para as restantes. Ainda relativamente ao parâmetro intenção de compra, 50% dos provadores não estaria interessado na compra da bolacha exposta a uma dose maior e foi citada como tendo um sabor mais torrado relativamente às restantes.

7.3.2. Cerejas – Burlat e Sweetheart

Para o estudo das cerejas houve oportunidade de avaliar mais factores do que os avaliados nas bolachas Oreó®. Assim, além da avaliação da carga microbiana, textura e cor foram estudados os níveis de sólidos solúveis e determinada a capacidade antioxidante e a quantidade de fenólicos totais presentes nas duas variedades de cerejas.

7.3.2.1. Cerejas Burlat

Antes de ser iniciado o estudo de inactivação microbiana por radiação, procedeu-se a uma avaliação da contaminação natural presente nesta variedade de cerejas.

Segundo a avaliação inicial, a quantidade de mesófilos totais presente nas cerejas Burlat foi de $108,13 \pm 23,10$ ufc/g e de fungos filamentosos foi de $60,20 \pm 21,62$ ufc/g.



7.3.2.1.1. Inativação da carga microbiana

Por modo a inativar a carga microbiana natural, procedeu-se à irradiação desta variedade de cerejas a diferentes doses. As curvas de inativação obtidas para esta variedade de cerejas estão representadas nas figuras 7.4 e 7.5, onde a barra de erro associada a cada ponto foi calculada a partir do intervalo de confiança considerando um nível de significância de 0,05. Para esta variedade foram obtidas duas curvas, uma correspondente ao meio para microrganismos mesófilos totais e outra para fungos filamentosos.

Curva de inativação - TSA

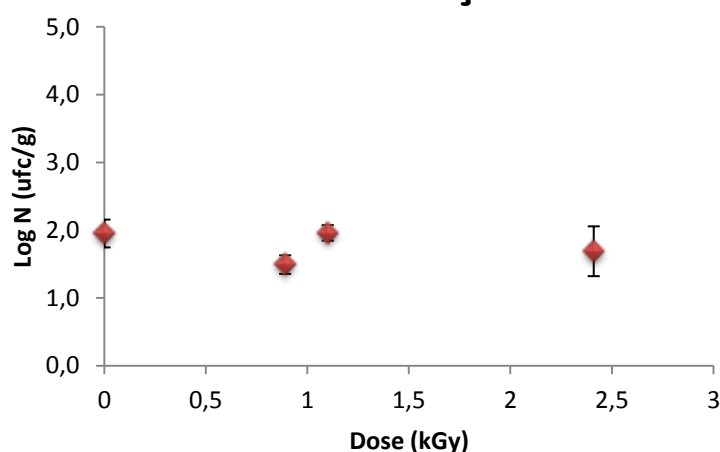


Figura 7.4 - Curva de inativação microbiana da população mesófila total das cerejas Burlat. Encontram-se também representados os intervalos de confiança para cada ponto ($n \leq 6$ e $\alpha = 0,05$).

Curva de inativação - PDA

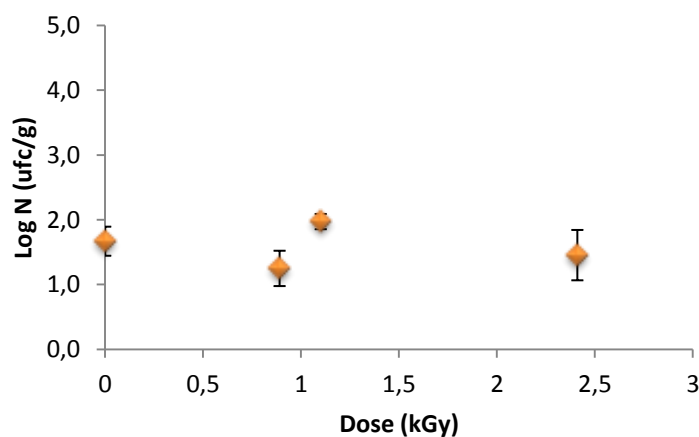


Figura 7.5 - Curva de inativação microbiana da população fúngica das cerejas Burlat. Encontram-se também representados os intervalos de confiança para cada ponto ($n \leq 6$ e $\alpha = 0,05$).



Para a gama de doses aplicadas não foi verificado decréscimo da carga microbiana natural. Este resultado pode ser explicado a partir da caracterização morfológica realizada para as colónias mais frequentes. O resultado da caracterização está descrito na tabela 7.10 que indica a frequência relativa em percentagem dos vários tipos de microrganismos presentes nas cerejas irradiadas e não irradiadas.

Tabela 7.10 - Frequência relativa dos tipos de microrganismos isolados (n=729) antes e após irradiação nas cerejas Burlat.

Tipificação fenotípica	Dose (kGy)			
	0	0,89	1,1	2,41
Cocos, gram positivo, catalase positiva	8,8	0	0	0
Cocos, gram negativo, catalase positiva	8,8	0	0	0
Bacilos, gram negativo, oxidase positiva	20,6	85,8	0	0,8
Leveduras	55,9	7,1	69,7	98,5
Fungos filamentosos	5,9	7,1	30,3	0,8

A microbiota natural das cerejas Burlat é constituída por cinco tipos morfológicos, sendo o mais frequente as leveduras ($\approx 56\%$).

É observada inactivação das bactérias do tipo cocos após irradiação. Apesar da diferença entre a primeira e a segunda dose não ser elevada, a inactivação das bactérias do tipo bacilos só é notória após 1,1 kGy. Relativamente aos fungos e leveduras, ainda é observada população para a dose mais elevada, sendo que para 2,41 kGy a microbiota natural é constituída predominantemente por leveduras. Este resultado pode ser explicado pela elevada resistência de fungos e leveduras à radiação, tal como foi já mencionado no capítulo 3 [13].

7.3.2.1.2 Factores de Qualidade

Tal como para as bolachas Oreo[®], diversos factores de qualidade foram analisados nas cerejas.

Textura

Os valores médios obtidos para os diversos parâmetros da textura analisados bem como o respectivo erro estão indicados na tabela 7.11.



Tabela 7.11 - Valores médios obtidos para os diferentes parâmetros da textura avaliados nas cerejas Burlat irradiadas e não irradiadas. Encontram-se também indicados os erros padrão de cada valor (n=10). Os valores que apresentam letras iguais não são considerados significativamente diferentes (p>0,05).

Dose (kGy)	Módulo Aparente (N/s)	Fracturabilidade (N)	Dureza (N)	Força Adesiva (N)	Adesividade (N.s)
0	0,72 ^a ± 0,05	0,23 ^a ± 0,03	0,29 ^a ± 0,02	-0,13 ^a ± 0,01	-0,016 ^{ab} ± 0,002
0,89	0,82 ^a ± 0,06	0,22 ^a ± 0,03	0,28 ^a ± 0,02	-0,15 ^a ± 0,01	-0,017 ^a ± 0,002
1,1	0,94 ^a ± 0,09	0,20 ^a ± 0,03	0,26 ^{ab} ± 0,02	-0,13 ^a ± 0,02	-0,014 ^{ab} ± 0,002
2,41	0,81 ^a ± 0,07	0,17 ^a ± 0,02	0,21 ^b ± 0,01	-0,11 ^a ± 0,01	-0,011 ^b ± 0,001

Através da análise estatística e à exceção dos valores da adesividade e dureza, todos os restantes não são considerados significativamente diferentes para um intervalo de confiança de 95%. Relativamente aos parâmetros dureza e fracturabilidade, o decréscimo observado indica que existe uma perda de rigidez e firmeza nas cerejas com o aumento da radiação.

Cor

A cor é um dos indicadores mais importantes para o estado de maturação e de frescura das cerejas [34]. Os valores médios das coordenadas do sistema CIEL*a*b* obtidos para as diferentes doses encontram-se indicados na tabela 7.12 com os respectivos erros padrão.

Tabela 7.12 - Valores médios obtidos para as coordenadas do sistema CIEL*a*b* nas cerejas Burlat irradiadas e não irradiadas. Encontram-se também indicados os respectivos erros padrão de cada valor (n=9). Os valores que apresentam letras iguais não são considerados significativamente diferentes (p>0,05).

Dose (kGy)	L*	a*	b*	C*	H°
0	26,85 ^a ± 0,46	8,69 ^a ± 1,07	1,75 ^a ± 0,27	8,88 ^a ± 1,09	11,34 ^a ± 1,00
0,89	27,77 ^a ± 0,41	7,35 ^a ± 0,53	1,61 ^a ± 0,11	7,53 ^a ± 0,52	12,71 ^a ± 1,10
1,10	27,81 ^a ± 0,28	8,24 ^a ± 0,64	1,58 ^a ± 0,15	8,39 ^a ± 0,65	10,79 ^a ± 0,49
2,41	28,17 ^a ± 0,19	9,2 ^a ± 0,77	1,65 ^a ± 0,20	9,35 ^a ± 0,79	10,03 ^a ± 0,62

Os valores de luminosidade aumentam com a dose. No que diz respeito à coordenada de cromaticidade a* o valor máximo encontra-se para a dose mais elevada. Os valores obtidos apesar de serem da mesma gama que os da literatura para a esta variedade, apresentam algumas diferenças. A diferença verificada pode ser explicada pelo tempo que as cerejas tinham após colheita e pelo seu modo de conservação [59]. Note-se que com o aumento da



dose os vários valores dos parâmetros variaram, no entanto, não são considerados significativamente diferentes segundo a análise estatística efectuada.

Os valores obtidos na coordenada de cromaticidade a^* e H^0 indicam a cor avermelhada das cerejas tal como pode ser observado na imagem 5.2.

Grau Brix

Através de um refractómetro foi medido o grau Brix. Os resultados estão indicados na tabela 7.13.

Tabela 7.13 - Valores médios obtidos de grau Brix para as cerejas Burlat irradiadas e não irradiadas. Encontram-se também indicados os respectivos erros padrão de cada valor ($n=4$).

Dose (kGy)	Grau Brix
0	20,13 ^a \pm 0,13
0,89	21,5 ^b
1,10	20,75 ^c \pm 0,14
2,41	20,75 ^c \pm 0,14

Os valores de grau Brix obtidos foram superiores para as cerejas irradiadas, sendo o maior valor para a dose de 0,89 kGy. Os valores obtidos estão concordantes com os valores encontrados na literatura que variam entre 10,4 e 16,3, onde a ligeira diferença pode ser devida ao tempo após colheita que a cereja apresentava e ainda à sua época de produção e crescimento [59].

Capacidade Antioxidante

Para o estudo da capacidade antioxidante e conteúdo em compostos fenólicos das cerejas analisadas, foram realizadas curvas de calibração para os dois métodos utilizados (FRAP e *Folin-Ciocalteu*), usando como padrão o ácido gálico e o ácido ascórbico.

Capacidade antioxidante - Curva de calibração

A curva de calibração obtida utilizando o método FRAP pode ser observada na figura 7.6, onde a barra de erro associada a cada ponto foi calculada a partir do intervalo de confiança considerando um nível de significância de 0,05. Foi usado como padrão o ácido ascórbico e as concentrações utilizadas para a construção desta curva de calibração e os valores médios de absorvância obtidos encontram-se indicadas na tabela 7.14.



Tabela 7.14 – Concentrações utilizadas da solução padrão (ácido ascórbico) bem como os respectivos valores médios de absorvância obtidos a 593nm e erros padrão.

Ácido Ascórbico (mg/L)	$Abs_{médio}(593nm) \pm \text{erro padrão}$
87,8	$0,729 \pm 0,006$
176,2	$1,463 \pm 0,015$
264,8	$1,831 \pm 0,007$
352,4	$2,127 \pm 0,003$

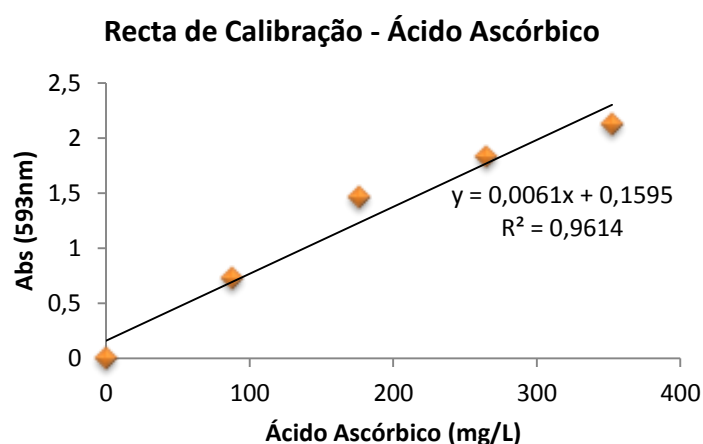


Figura 7.6 - Recta de calibração para o ácido ascórbico usando o método FRAP. Encontram-se indicados os intervalos de confiança de cada ponto ($n=3$ e $\alpha=0,05$).

Compostos fenólicos – Curvas de calibração

Para a avaliação da quantidade de compostos fenólicos presentes nas amostras de cerejas foram utilizados como padrão das rectas de calibração o ácido gálico e ácido ascórbico. Nas tabelas 7.15 e 7.16 estão indicadas as concentrações utilizadas para as duas soluções padrão, ácido gálico e ácido ascórbico respectivamente, bem como os valores médios de absorvância obtidos a 765nm. Nas figuras 7.7 e 7.8 observam-se as curvas de calibração obtidas, onde a barra de erro associada a cada ponto foi calculada partir do intervalo de confiança considerando um nível de significância de 0,05.



Tabela 7.15 – Concentrações utilizadas da solução padrão (ácido gálico) bem como os respectivos valores médios de absorvância obtidos a 765nm e erros padrão.

Ácido Gálico (mg/L)	$Abs_{médio}(765nm) \pm \text{erro padrão}$
85,4	$0,069 \pm 0,003$
170,4	$0,161 \pm 0,018$
257	$0,236 \pm 0,006$
340,4	$0,387 \pm 0,002$
426,4	$0,457 \pm 0,038$
509,6	$0,508 \pm 0,041$
595,6	$0,634 \pm 0,005$

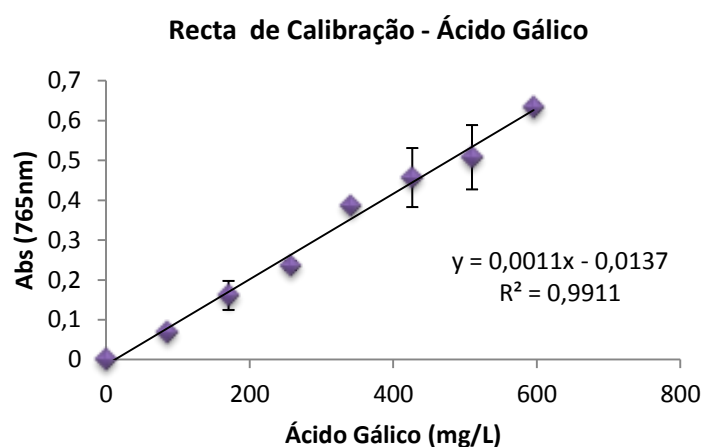


Figura 7.7 – Recta de calibração para o ácido gálico usando o reagente *Folin-Ciocalteu*. Encontram-se indicados os intervalos de confiança de cada ponto ($n=3$ e $\alpha=0,05$).

Tabela 7.16 - Concentrações utilizadas da solução padrão (ácido ascórbico) bem como os respectivos valores médios de absorvância obtidos a 765nm e erros padrão.

Ácido Ascórbico (mg/L)	$Abs_{médio}(765nm) \pm \text{erro padrão}$
0	$0,0457 \pm 0,0003$
87,8	$0,105 \pm 0,001$
176,2	$0,160 \pm 0,003$
264,8	$0,233 \pm 0,009$
352,4	$0,270 \pm 0,009$
440	$0,334 \pm 0,011$
528,8	$0,397 \pm 0,004$

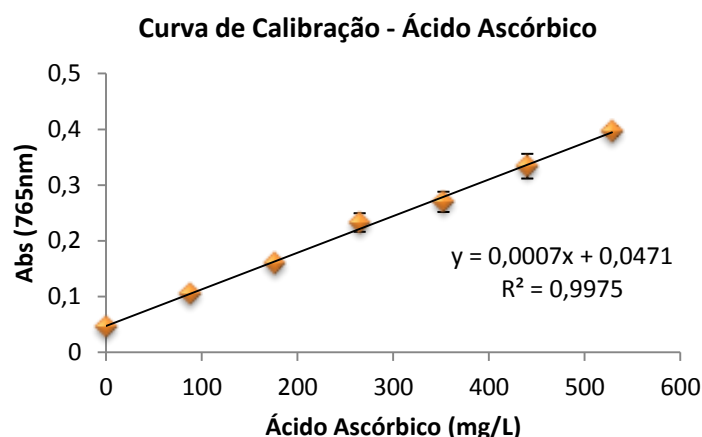


Figura 7.8 - Recta de calibração para o ácido ascórbico usando o reagente *Folin-Ciocalteu*. Encontram-se indicados os intervalos de confiança de cada ponto ($n=3$ e $\alpha=0,05$).

Tal como para a capacidade antioxidante, os valores da quantidade de fenólicos totais presentes nas amostras são calculados a partir da substituição dos valores de absorvância obtidos na equação da recta de calibração, tendo sempre em conta a massa da amostra utilizada. Quando calculados são representados em miligrama de equivalentes de ácido gálico/ascórbico por 100g de massa fresca de cerejas.

O gráfico referente à capacidade antioxidante das variedades Burlat para as várias doses de radiação encontra-se na figura 7.9, onde a barra de erro associada a cada ponto foi calculada a partir do intervalo de confiança considerando um nível de significância de 0,05. O total da capacidade antioxidante é expresso em miligrama de equivalentes de ácido ascórbico por 100g de massa fresca.

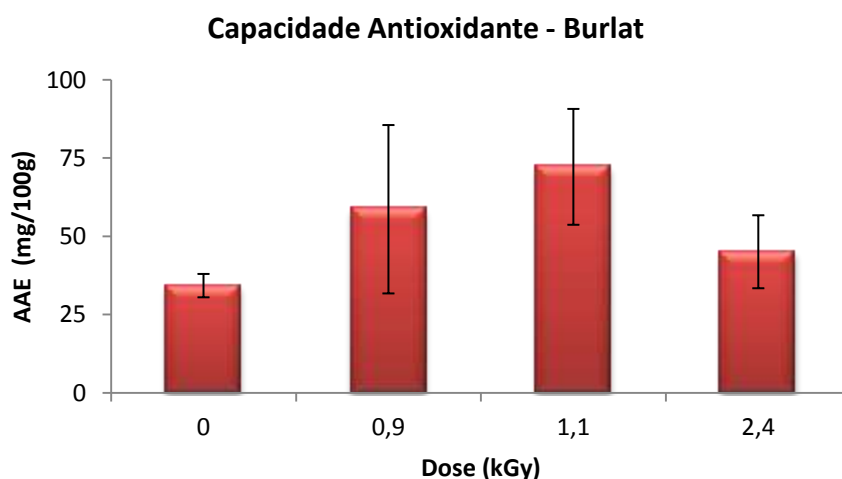


Figura 7.9 – Capacidade antioxidante expressa em miligramas de equivalentes de ácido ascórbico por 100g de massa fresca em função da dose, para as cerejas Burlat. Encontram-se também indicados os intervalos de confiança respectivos para cada ponto ($n=6$ e $\alpha=0,05$).

Os resultados indicam um aumento da capacidade antioxidante das cerejas com a radiação, comparativamente às cerejas não irradiadas. Os resultados obtidos encontram-se



entre os 25 e 75 mg AAE/100g de massa fresca, sendo o maior valor observado de 72,2 mg AAE/100g de massa fresca para a dose 1,1 kGy. O valor obtido da capacidade antioxidante nas cerejas Burlat não irradiadas encontra-se concordante com a literatura (≈ 17 mg AAE/100g de massa fresca). A ligeira diferença entre os valores pode ser devido ao método de extracção utilizado [35, 60]

Quanto à quantidade de fenólicos totais os gráficos podem ser visualizados nas figuras 7.10 e 7.11, onde a barra de erro associada a cada ponto foi calculada a partir do intervalo de confiança considerando um nível de significância de 0,05. Os resultados são expressos em miligrama de equivalentes de ácido gálico/ácido ascórbico por 100g de fruta fresca.

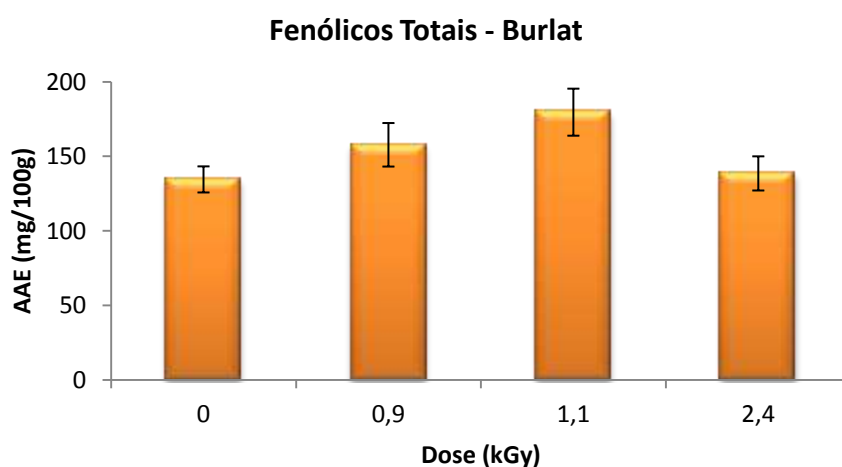


Figura 7.10 – Quantidade de compostos fenólicos totais presentes nas amostras expressos em miligramas de equivalentes de ácido ascórbico por 100g de massa fresca em função da dose. Encontram-se também indicados os intervalos de confiança de cada ponto ($n=6$ e $\alpha=0,05$).

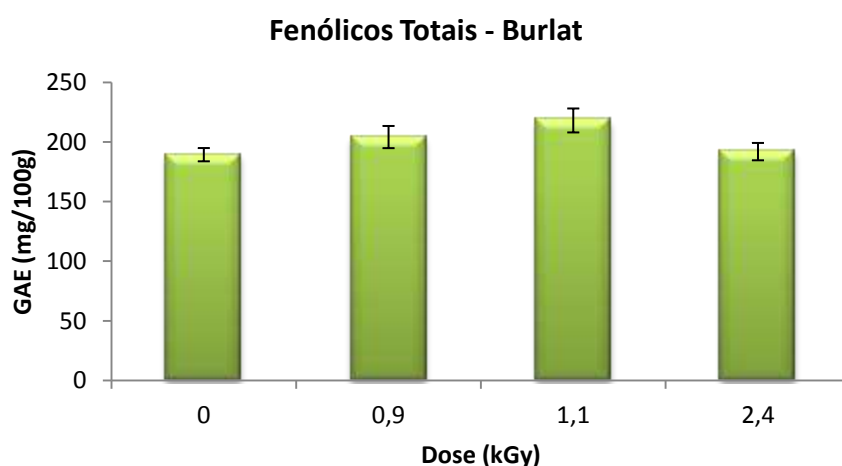


Figura 7.11 - Quantidade de compostos fenólicos totais presentes nas amostras expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico por 100g de massa fresca em função da dose. Encontram-se também indicados os intervalos de confiança de cada ponto ($n=6$ e $\alpha=0,05$).



Os frutos vermelhos são conhecidos pela sua riqueza em compostos fenólicos [61]. Observando as figuras 7.10 e 7.11 é notória a grande quantidade de compostos fenólicos presentes na variedade Burlat.

Tal como para a capacidade antioxidante, é observado um ligeiro aumento na quantidade de fenólicos totais nas amostras irradiadas. O valor máximo obtido foi para a dose 1,1 kGy tal como aconteceu na capacidade antioxidante. Isto poderá dever-se à quebra induzida pela radiação dos compostos fenólicos mais complexos, originando um maior número detectável deste compostos.

Foram obtidos como valores máximos 179,69 e 218,01 mg AAE e mg GAE por 100g de massa fresca respectivamente, na dose 1,1 kGy. Os valores mais baixos foram obtidos nas amostras não irradiadas, 134,59 e 189,31 mg AAE e mg GAE por 100g de massa fresca, respectivamente.

Os resultados obtidos são superiores aos encontrados na literatura para esta variedade de cerejas sem qualquer tratamento (≈ 84 mg GAE/100g de massa fresca). Importa referir que a quantidade de compostos fenólicos varia consoante a época e o local de crescimento [35, 61].

Os valores obtidos para a actividade antioxidante estão relacionados com os valores da quantidade de fenólicos totais apresentando um coeficiente $R^2=0,94$. Dada as limitações do método, podem ter havido compostos fenólicos que não foram detectados.

7.3.2.2. Cerejas Sweetheart

Para a variedade Sweetheart, a dose máxima aplicada foi superior, pois na variedade Burlat não foi observada inactivação dos microrganismos presentes. Antes de ser iniciado o estudo de inactivação microbiana por radiação, procedeu-se a uma avaliação da contaminação natural presente nesta variedade de cerejas, tal como foi efectuado para a variedade Burlat.

Segundo a avaliação inicial, a quantidade de mesófilos totais presente nas cerejas Sweetheart foi de $514,10 \pm 107,85$ ufc/g e de fungos filamentosos foi de $638,89 \pm 195,78$ ufc/g.

7.3.2.2.1. Inactivação microbiana

Para as cerejas Sweetheart foi estudada a inactivação microbiana a diferentes doses e ao longo do tempo para avaliar a possível extensão do tempo de prateleira. Foram realizados estudos de inactivação logo após a irradiação ($T=0$) e 2º e 7º dias após irradiação, sendo as cerejas armazenadas a uma temperatura de 4°C. Para cada tempo estudado foram obtidas duas curvas de inactivação, uma para mesófilos totais e outra para fungos filamentosos que estão apresentadas nas figuras 7.12 e 7.13, onde a barra de erro associada a cada ponto foi calculada a partir do intervalo de confiança considerando um nível de significância de 0,05.



Curva de inativação - TSA

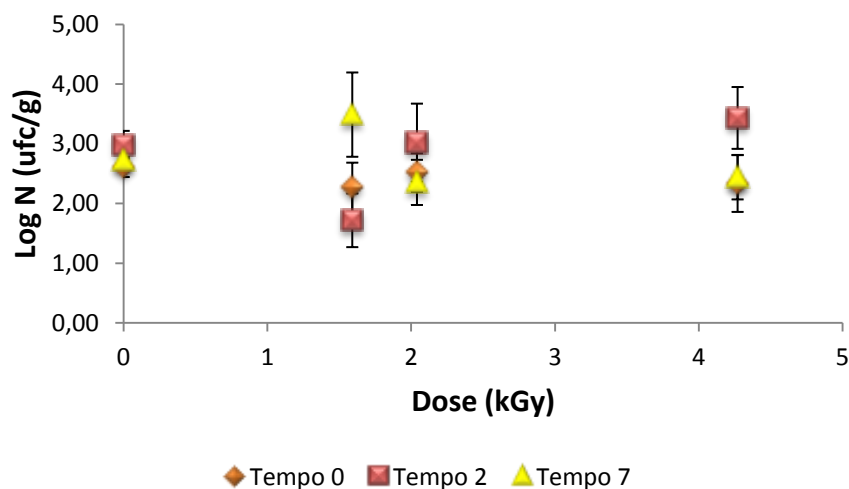


Figura 7.12 – Curvas de inativação microbiana da população mesófila total das cerejas Sweetheart irradiadas e não irradiadas, para os 3 tempos diferentes de armazenamento. Encontram-se também representados os intervalos de confiança para cada ponto ($n \leq 6$ e $\alpha = 0,05$).

Curva de inativação - PDA

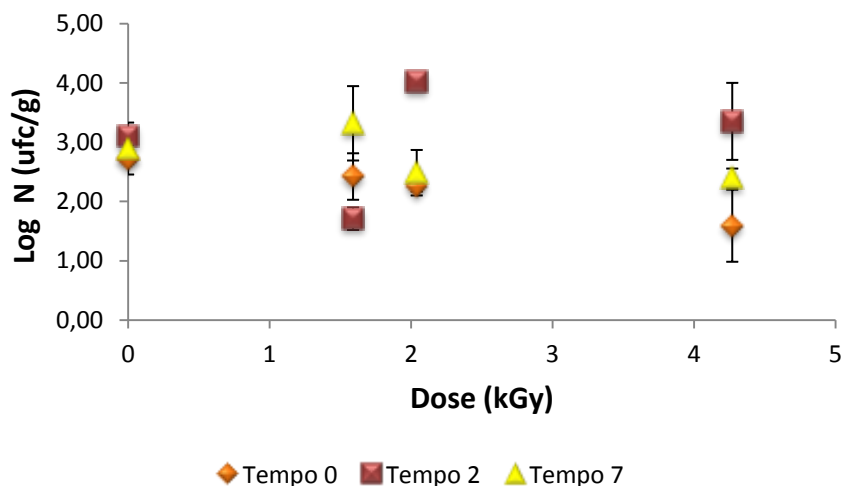


Figura 7.13 - Curvas de inativação microbiana da população fúngica das cerejas Sweetheart irradiadas e não irradiadas, para os 3 tempos diferentes de armazenamento. Encontram-se também representados os intervalos de confiança para cada ponto ($n \leq 6$ e $\alpha = 0,05$).

Para os dois tipos de população microbiana analisada, não foi observado um decréscimo significativo ($< 1\log$) do número de microrganismos para a gama de doses aplicada. Contudo, para a população fúngica, após irradiação ($T=0$) foi observado um decréscimo linear ($R^2 = 0,9824$) de microrganismos de $1,12\log$ ($\approx 41\%$).

Relativamente ao tempo de prateleira, com a gama de doses aplicada não se observa extensão do tempo de prateleira. A única exceção observada foi para o meio TSA onde à



dose 2,04 kGy há um ligeiro decréscimo de 0.17log (6,75%) no número de microrganismos do tempo 0 para o tempo 7.

A microbiota das cerejas antes e após irradiação foi igualmente caracterizada morfológicamente. Os resultados estão indicados na tabela 7.17 em frequência relativa dos tipos morfológicos.

Tabela 7.17 Frequência relativa dos tipos de microrganismos isolados (n=259) antes e após irradiação nas cerejas Sweetheart.

Tempo (dias)	Tipificação fenotípica	Dose (kGy)			
		0	1,59	2,04	4,27
0	Cocos gram negativo, catalase positiva	0,8	0	2,7	0
	Bacilos gram negativo, oxidase positiva	14,5	0	0	0
	Leveduras	28,2	100	97,3	100
	Fungos filamentosos	56,5	0	0	0
2	Cocos gram negativo, catalase positiva	0,1	0	0	0,1
	Bacilos gram negativo, oxidase positiva	0,4	0	1	0
	Bacilos gram positivo, catalase positiva	0	0	0,6	0
	Leveduras	99,4	100	98,4	99,9
	Fungos filamentosos	0,1	0	0	0
7	Bacilos gram positivo, catalase positiva	0,6	0	0	4,7
	Leveduras	99,4	100	100	95,3

Por observação da tabela verifica-se que a microbiota deste tipo de cerejas é constituída maioritariamente por leveduras, tal como nas cerejas Burlat. Com o aumento da dose de radiação, verifica-se o desaparecimento dos tipos morfológicos bactérias e fungos filamentosos. O mesmo não é verificado para as leveduras que apresentam uma elevada frequência relativa em todos os tempos analisados e para todas as doses aplicadas. Estes resultados vão de acordo com a literatura que cita a elevada resistência por parte das leveduras à radiação [13].

7.3.2.2.2. Factores de Qualidade

Textura

A textura foi avaliada para todas as doses ao longo do tempo de armazenamento. Os parâmetros analisados foram os mesmos da variedade Burlat. Na tabela 7.18 estão apresentados os valores médios obtidos para cada dose nos três tempos de armazenamento diferentes assim como o respectivo erro padrão.



Tabela 7.18 - Valores médios obtidos para os diferentes parâmetros da textura avaliados nas cerejas Sweetheart irradiadas e não irradiadas, nos 3 tempos diferentes de armazenamento. Encontram-se também indicados os erros padrão associados (n=10). Os valores que apresentam letras iguais não são considerados significativamente diferentes ($p>0,05$).

Tempo (dias)	Dose (kGy)	Módulo Aparente (N/s)	Fracturabilidade (N)	Dureza (N)	Força Adesiva (N)	Adesividade (N.s)
0	0	0,55 ^a ± 0,03	0,22 ^a ± 0,01	0,25 ^a ± 0,01	-0,11 ^a ± 0,01	-0,012 ^a ± 0,001
	1,59	0,69 ^a ± 0,08	0,16 ^b ± 0,01	0,21 ^a ± 0,01	-0,11 ^a ± 0,01	-0,011 ^a ± 0,001
	2,04	0,48 ^a ± 0,03	0,18 ^{ab} ± 0,02	0,20 ^a ± 0,01	-0,10 ^{ab} ± 0,01	-0,009 ^a ± 0,001
	4,27	0,61 ^a ± 0,21	0,18 ^{ab} ± 0,02	0,13 ^b ± 0,01	-0,06 ^b ± 0,02	-0,010 ^a ± 0,002
2	0	0,71 ^a ± 0,07	0,18 ^a ± 0,02	0,23 ^a ± 0,02	-0,15 ^{ab} ± 0,01	-0,019 ^a ± 0,002
	1,59	0,71 ^a ± 0,16	0,15 ^a ± 0,02	0,23 ^a ± 0,03	-0,16 ^a ± 0,02	-0,020 ^a ± 0,003
	2,04	0,61 ^a ± 0,13	0,17 ^a ± 0,05	0,16 ^b ± 0,02	-0,10 ^{bc} ± 0,01	-0,016 ^{ab} ± 0,002
	4,27	0,53 ^a ± 0,06	0,16 ^a ± 0,02	0,19 ^b ± 0,02	-0,08 ^c ± 0,01	-0,010 ^b ± 0,001
7	0	0,64 ^a ± 0,15	0,16 ^a ± 0,02	0,24 ^a ± 0,02	-0,15 ^a ± 0,01	-0,020 ^a ± 0,001
	1,59	0,71 ^a ± 0,14	0,15 ^a ± 0,02	0,19 ^{ab} ± 0,02	-0,14 ^a ± 0,01	-0,020 ^a ± 0,001
	2,04	0,47 ^a ± 0,14	0,13 ^a ± 0,01	0,16 ^{bc} ± 0,01	-0,12 ^a ± 0,01	-0,016 ^a ± 0,002
	4,27	0,65 ^a ± 0,15	0,09 ^a ± 0,02	0,13 ^c ± 0,01	-0,12 ^a ± 0,01	-0,019 ^a ± 0,003

Para o tempo 0, os valores obtidos nas diferentes doses no módulo aparente e na adesividade não são considerados significativamente diferentes. Nos restantes parâmetros os valores são menores para as amostras irradiadas.

Para o tempo 2, à excepção dos valores de adesividade, força adesiva e do tempo 0 no módulo aparente, o maior valor de cada parâmetro é sempre obtido na amostra não irradiada e o menor, no caso da fracturabilidade e dureza, é referente à amostra exposta a uma dose mais elevada de radiação. No tempo 7 é verificado um decréscimo dos valores com a dose nos parâmetros dureza e fracturabilidade.

A diminuição observada para todos os tempos de armazenamento nos parâmetros dureza e fracturabilidade, indica perda de rigidez e firmeza com a irradiação.

Cor

O parâmetro cor também foi avaliado para estas variedades de cerejas. Os resultados obtidos para os diferentes tempos de armazenamento em função da dose podem ser consultados na tabela 7.19.



Tabela 7.19 – Valores médios obtidos para as coordenadas do sistema CIEL*a*b* nas cerejas Sweetheart irradiadas e não irradiadas, nos 3 tempos diferentes de armazenamento. Encontram-se também indicados os respectivos erros padrão de cada valor (n=9). Os valores que apresentam letras iguais não são considerados significativamente diferentes ($p>0,05$).

Tempo (dias)	Dose (kGy)	L*	a*	b*	C*	H°
0	0,00	25,23 ^a ± 0,47	19,21 ^a ± 1,11	3,50 ^{ab} ± 0,32	19,53 ^a ± 1,15	10,17 ^{ab} ± 0,45
	1,59	25,82 ^a ± 0,50	19,74 ^a ± 1,66	4,01 ^a ± 0,60	20,16 ^a ± 1,73	10,95 ^a ± 0,89
	2,04	23,48 ^a ± 0,61	13,63 ^b ± 1,03	1,93 ^c ± 0,25	13,77 ^b ± 1,05	7,83 ^b ± 0,46
	4,27	25,56 ^a ± 0,35	13,84 ^b ± 0,79	2,35 ^{bc} ± 0,25	14,05 ^b ± 0,82	9,41 ^{ab} ± 0,53
2	0,00	29,49 ^a ± 0,33	16,22 ^a ± 1,26	3,20 ^a ± 0,45	16,54 ^a ± 1,33	10,77 ^a ± 0,64
	1,59	29,43 ^a ± 0,19	14,60 ^a ± 0,36	2,76 ^{ab} ± 0,15	16,85 ^a ± 1,39	10,68 ^a ± 0,41
	2,04	29,08 ^a ± 0,14	13,27 ^{ab} ± 0,57	2,24 ^{ab} ± 0,19	17,10 ^a ± 1,36	9,49 ^a ± 0,42
	4,27	28,87 ^a ± 0,22	10,95 ^b ± 1,15	1,81 ^b ± 0,21	17,26 ^a ± 1,35	9,35 ^a ± 0,28
7	0,00	28,30 ^a ± 0,26	10,87 ^a ± 1,47	1,74 ^a ± 0,34	11,02 ^a ± 1,51	8,50 ^a ± 0,60
	1,59	28,43 ^a ± 0,15	11,47 ^a ± 0,88	2,03 ^a ± 0,24	11,65 ^a ± 0,91	9,80 ^a ± 0,43
	2,04	28,49 ^a ± 0,20	11,79 ^a ± 0,82	1,99 ^a ± 0,24	11,96 ^a ± 0,84	9,37 ^a ± 0,57
	4,27	28,22 ^a ± 0,15	11,43 ^a ± 0,67	2,05 ^a ± 0,16	11,62 ^a ± 0,68	10,11 ^a ± 0,40

Relativamente à variação ao longo do tempo de armazenamento, apenas para a coordenada L* é verificado uma tendência de aumento. Para as restantes, observa-se um decréscimo dos valores. No entanto, os valores obtidos para as diferentes doses num intervalo de confiança de 95% não são considerados significativamente diferentes.

A coordenada de cromaticidade a* para os tempos 0 e 2 diminuiu com a dose mas para o tempo 7 verifica-se o oposto. Note-se que a diminuição ao longo do tempo indica que as cerejas vão-se tornando mais escuras. Os valores obtidos são positivos o que indica a cor avermelhada das cerejas.

O mesmo se verifica para a coordenada H°, onde os valores obtidos se encontram, tal como era de esperar, na gama dos vermelhos. Os valores máximos obtidos foram no tempo 2, havendo um decréscimo do valor com a dose. Para o tempo 7 é verificado o oposto.

Note-se que a diminuição dos parâmetros C* e H° ao longo do tempo estão de acordo com a literatura podendo ser explicada pelo desenvolvimento de compostos escuros e pigmentados que alteram a cor da fruta [34].

Grau Brix

O grau Brix também foi avaliado para as diferentes doses e nos 3 tempos de armazenamento diferentes. Os resultados obtidos encontram-se indicados na tabela 7.20.



Tabela 7.20 – Valores médios obtidos de grau Brix para as cerejas Sweetheart irradiadas e não irradiadas, nos 3 tempos diferentes de armazenamento. Encontram-se também indicados os erros padrão associados (n=4). Os valores que apresentam letras iguais não são considerados estatisticamente diferentes (p>0,05).

Dose (kGy)	Tempo (dias)		
	0	2	7
0	21,00 ^a	20,00 ^a	20,75 ^a
1,59	20,50 ^b	20,50 ^b ± 0,10	19,25 ^b
2,04	23,00 ^c	23,25 ^c	23,00 ^c
4,27	23,44 ^d ± 0,12	22,13 ^d ± 0,07	19,81 ^d ± 0,24

Os valores máximos obtidos nos 3 tempos são relativos a amostras irradiadas, No tempo 0, o valor mais alto corresponde à dose mais elevada e para os restantes à dose 2,04 kGy. Estes resultados podem ser justificados considerando a quebra de ligações das moléculas de açúcares.

Ao longo do tempo armazenamento, verifica-se uma diminuição dos valores de grau Brix.

Capacidade Antioxidante

A capacidade antioxidante das cerejas Sweetheart irradiadas e não irradiadas pode ser observada na figura 7.14, sendo expressa em mgAAE/100g de massa fresca de cereja.

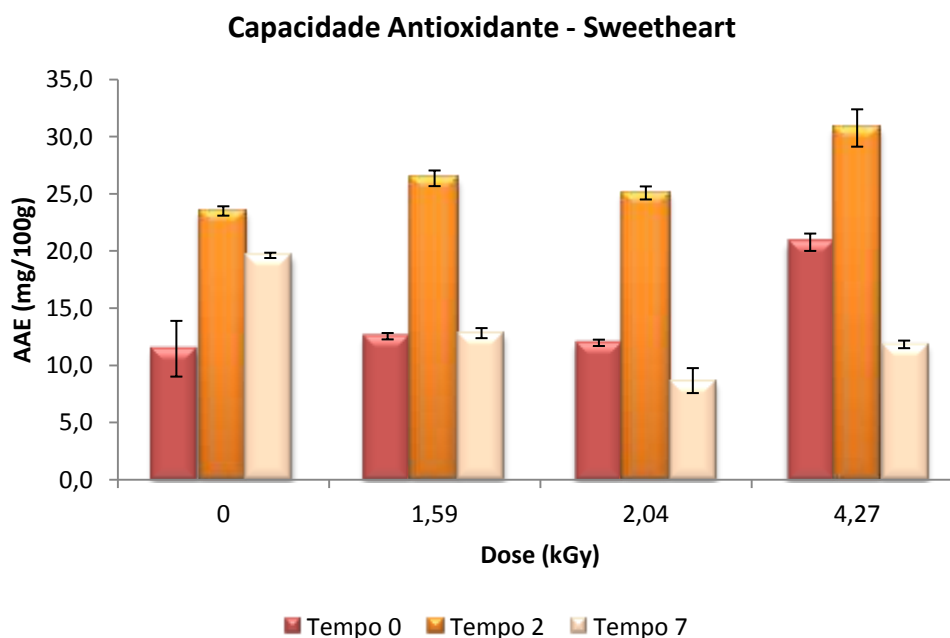


Figura 7.14 - Capacidade antioxidante das cerejas Sweetheart irradiadas e não irradiadas, expressa em miligramas de equivalentes de ácido ascórbico por 100g de massa fresca em função da dose, para os 3 tempos diferentes de armazenamento. Encontram-se também indicados os intervalos de confiança respectivos de cada ponto (n=6 e $\alpha=0,05$).



Tal como na variedade Burlat, observa-se um aumento da capacidade antioxidante com a radiação para os tempos 0 e 2, sendo que no tempo 2 é quando se verificam os valores mais elevados.

Para o tempo 0 constata-se um aumento significativo da capacidade antioxidante quando aplicada a dose mais elevada. Os valores máximos e mínimos obtidos são, respectivamente, 20,78 mgAAE/100g de massa fresca e 11,46 mgAAE/100g de massa fresca.

No tempo 2 são observados os maiores valores de actividade antioxidante. O mais elevado foi de 30,77 mgAAE/100g de massa fresca para a dose 4,27 kGy.

Relativamente ao tempo 7 o valor máximo observado, 19,63 mgAAE/100g de massa fresca, é para a amostra não irradiada. É o único tempo onde se verifica, exceptuando a última dose, um decréscimo da capacidade antioxidante.

A luz e a temperatura podem servir como explicação na variação da capacidade antioxidante nos diferentes tempos de armazenamento e para as diferentes doses, pois são considerados os principais factores influentes na capacidade antioxidante durante o armazenamento [43].

A quantidade de compostos fenólicos presente nesta variedade pode ser observada na figura 7.15. Os resultados vêm expressos em mgGAE/100g de massa fresca.

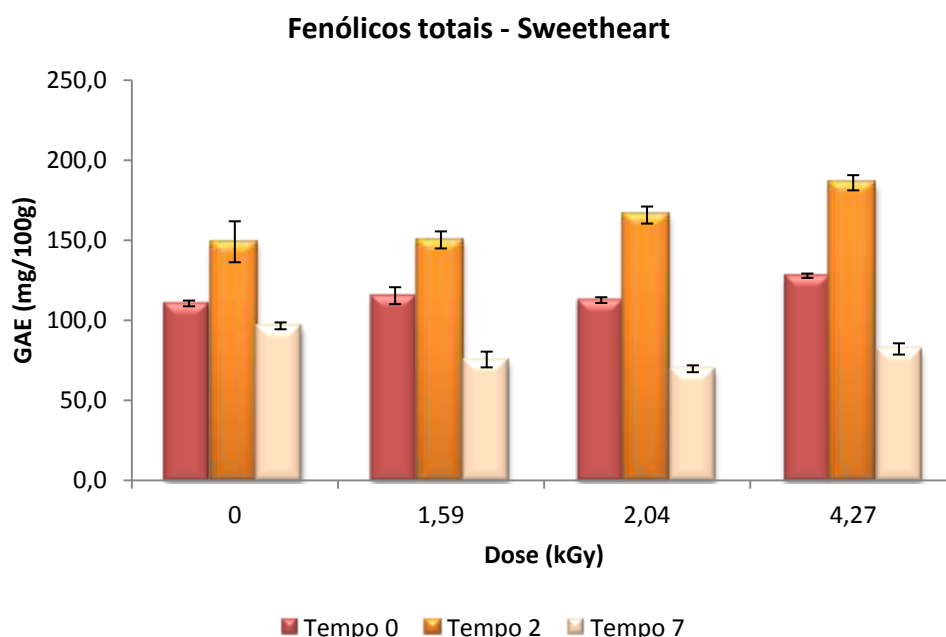


Figura 7.15 - Quantidade de compostos fenólicos totais presentes nas cerejas Sweetheart irradiadas e não irradiadas, expressa em miligramas de equivalentes de ácido gálico por 100g de massa fresca em função da dose, para os 3 tempos diferentes de armazenamento. Encontram-se também indicados os intervalos de confiança de cada ponto ($n=6$ e $\alpha=0,05$).

Para o tempo 2 é observada a maior quantidade de compostos fenólicos. O valor máximo obtido foi 185,90 mgGAE/100g de massa fresca para a dose 4,27 kGy.



Enquanto no tempo 0 os valores são praticamente iguais nas diferentes doses, para o tempo 7 volta-se a observar um decréscimo nos fenólicos totais. O valor mais elevado, 96,52 mgGAE/100g de massa fresca, é obtido para a amostra não irradiada.

Os resultados obtidos tanto para a actividade antioxidante como para a quantidade de fenólicos encontram-se ligeiramente acima dos observados na literatura, que citam valores de capacidade antioxidante entre 7,99 e 17,2 mgAAE/100g de massa fresca e de compostos fenólicos entre 44,2 e 87,9 mgGAE/100g de massa fresca [35]. Note-se que as diferenças observadas são devido ao facto de se tratar de variedades diferentes bem como diferentes condições de crescimento e métodos de extração [60, 61].

Análise Sensorial

Foi realizada uma análise sensorial composta por dez provadores não treinados. A análise foi realizada logo após irradiação e nos dias 2 e 7 após irradiação. Os resultados obtidos estão apresentados nas figuras 7.16, 7.17 e 7.18.

Análise sensorial - Variação de parâmetros - Tempo 0

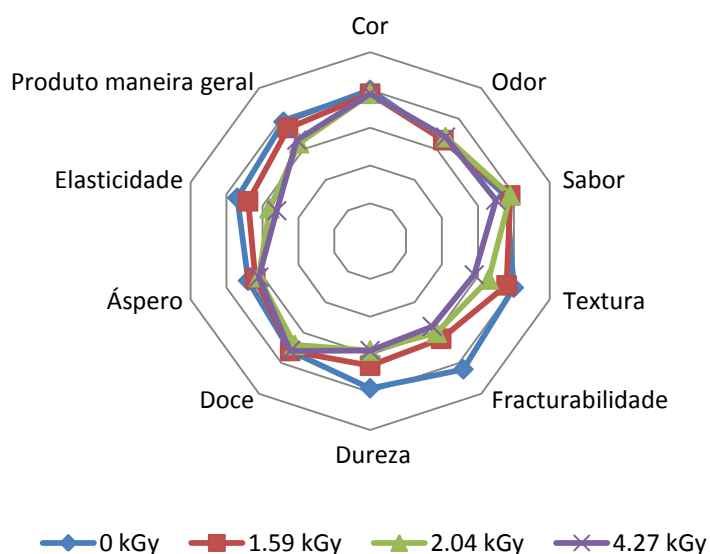


Figura 7.16 - Gráfico radar da análise sensorial efectuada às cerejas Sweetheart irradiadas e não irradiadas, para o tempo 0 de armazenamento. O centro corresponde à pontuação zero e a extremidade à pontuação 5.

Pela observação do gráfico os únicos parâmetros onde é notória uma diferença entre valores é na fracturabilidade e elasticidade. É para fracturabilidade que as diferenças são mais significativas, onde as amostras não irradiadas apresentam uma pontuação muito superior à obtida para as amostras irradiadas.



Análise sensorial - Variação de parâmetros - Tempo 2

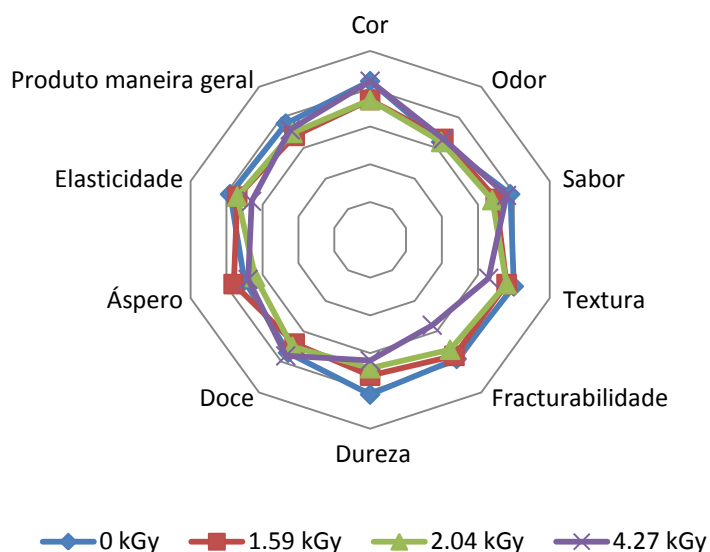


Figura 7.17 - Gráfico radar da análise sensorial efectuada às cerejas Sweetheart irradiadas e não irradiadas, para o tempo 2 de armazenamento. O centro corresponde à pontuação zero e a extremidade à pontuação 5.

As pontuações obtidas para o tempo 2 são bastantes constantes relativamente à dose. Assim, a diferença mais significativa observa-se para o parâmetro fracturabilidade onde a dose 4,27 kGy apresenta menor pontuação comparativamente às restantes.

Análise sensorial - Variação de parâmetros - Tempo 7

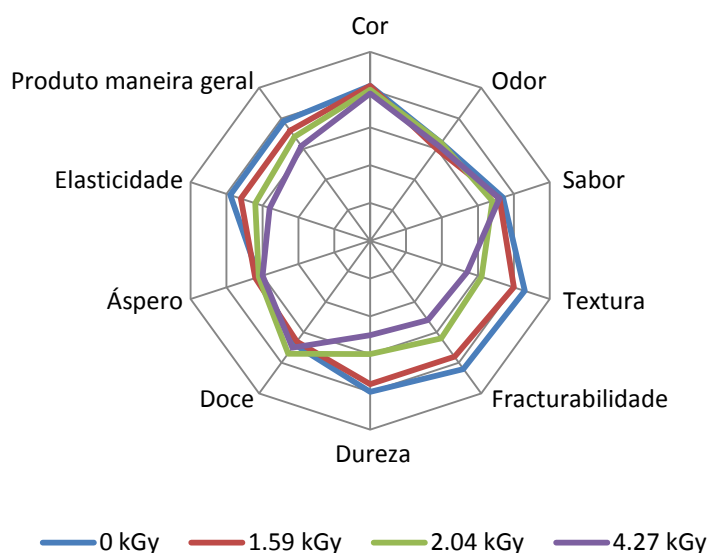


Figura 7.18 - Gráfico radar da análise sensorial efectuada às cerejas Sweetheart irradiadas e não irradiadas, para o tempo 7 de armazenamento. O centro corresponde à pontuação zero e a extremidade à pontuação 5.



Para o tempo 7 as diferenças são muito notórias. Apresentam iguais pontuações em todas as doses os parâmetros cor, odor e sabor. Relativamente à textura, fracturabilidade e produto de maneira geral, observa-se uma diminuição de pontuação com o aumento da dose, As cerejas irradiadas a 2,04kGy obtiveram uma maior pontuação para doçura.

Relativamente às diferenças nos parâmetros ao longo do tempo é, principalmente, na fracturabilidade e textura que existe maior discrepância. Inicialmente não são observadas diferenças significativas entre as cerejas irradiadas e não irradiadas, contrariamente ao que acontece no tempo 7. Assim, ao final de sete dias de armazenamento as cerejas não irradiadas apresentam praticamente as mesmas pontuações que no tempo 0. À medida que a dose aumenta as pontuações nos parâmetros diminuem.

Devemos ter em conta que a análise sensorial no caso das cerejas é muito relativa, uma vez que as cerejas dadas aos provadores podem estar em diferentes estados de maturação podendo alterar a avaliação dos mesmos.





Capítulo 8

8. Conclusão e Trabalho Futuro

Com o presente trabalho pretendia-se avaliar o tratamento de alimentos por radiação gama, de forma a poder aumentar a variabilidade de alimentos para grupos de risco. Os alimentos estudados no trabalho foram bolachas Oreo® e duas variedades de cerejas, Burlat e Sweetheart.

De modo geral, não foi observado um decréscimo significativo da microbiota natural dos alimentos para as doses de radiação aplicadas. Através do estudo da contaminação natural verificou-se para as bolachas Oreo® que possuem uma baixa carga microbiana e que a população microbiana das cerejas é maioritariamente constituída por leveduras.

Relativamente aos factores de qualidade, para as bolachas Oreo® não foram observadas diferenças significativas na textura e na cor. Quanto à análise sensorial verificou-se principalmente uma diferença de pontuações no parâmetro sabor das bolachas não irradiadas comparativamente com as irradiadas à dose mais elevada. Este alimento, com base nos resultados obtidos, indica pouca viabilidade para um potencial tratamento por radiação, tanto em termos quantitativos (inactivação microbiana) como qualitativos (análise sensorial).

No caso das cerejas, e relativamente à textura, foi verificado para as duas variedades um decréscimo dos valores dos parâmetros fracturabilidade e dureza com a dose e ao longo do tempo (no caso da variedade Sweetheart). Assim conclui-se que o aumento da dose provoca a diminuição de firmeza e rigidez nas cerejas tal como foi verificado com a análise sensorial realizada para a variedade Sweetheart. Nesta avaliação as principais diferenças verificadas foram ao nível dos parâmetros fracturabilidade, dureza e textura, onde é notória uma elevada pontuação para as cerejas não irradiadas e menor para as restantes.



Na variedade Sweetheart, também foi verificada, apesar de pouco significativa, uma diferença no parâmetro da cor. Assim, constatou-se que com o tempo a cor das cerejas tende a escurecer. Tal resultado já era esperado, visto a cor escura das cerejas estar associado a um estado de maior maturação.

Quanto ao grau Brix conclui-se que em ambas as variedades de cerejas o seu valor aumenta para as amostras irradiadas.

Para a capacidade antioxidante os resultados obtidos indicam que a variedade Burlat apresenta um maior poder antioxidante relativamente à variedade Sweetheart. De igual forma, as cerejas da variedade Burlat apresentam uma maior quantidade de compostos fenólicos comparativamente às Sweetheart, sendo que para ambas as variedades é observada uma tendência de aumento de compostos fenólicos totais com o aumento da dose de irradiação. Relativamente à variação da capacidade antioxidante ao longo do tempo na variedade Sweetheart, conclui-se que, ao fim de dois dias de armazenamento, tanto a capacidade antioxidante como a quantidade de fenólicos aumenta significativamente para as diferentes doses. Ao fim de sete dias de armazenamento, é notório um decréscimo da capacidade antioxidante e dos compostos fenólicos totais onde os valores, de modo geral, são inferiores aos obtidos no tempo 0 e 2.

Relativamente à avaliação do aumento do tempo de prateleira, no caso das cerejas Sweetheart, não foi observado aumento significativo para a gama de doses aplicadas. Note-se que as doses aplicadas nas cerejas foram relativamente baixas com o intuito de o tornar seguro e manter a sua qualidade.

Como trabalho futuro e referente aos alimentos estudados, sugere-se a aplicação de doses mais elevadas de modo a aumentar a segurança alimentar (inactivação microbiana) mas sem alterar a sua qualidade e valor nutricional. Além disso, propõe-se através da técnica de HPLC, identificar os compostos fenólicos presentes nas variedades de cerejas estudadas de modo a avaliar o valor nutricional antes e após irradiação.

Sugere-se irradiar e estudar outros alimentos como frutas e vegetais. Propõe-se também gomas, uma guloseima pedida por muitas das crianças presentes no IPO de Lisboa.

Podem ser estudados também os efeitos provocados no alimento para diferentes fontes radiação tais como o feixe de electrões.

A implementação de alimentos irradiados nas refeições de imunocomprometidos seria um passo muito importante para o projecto. Os alimentos tornam-se mais seguros e por mais insignificante que para nós seja o alimento, para pacientes imunocomprometidos pode levar a um melhoramento do seu estado emocional e da sua qualidade de vida.



Bibliografia

- [1] K. Khan. e M. Abraham, "Effect of irradiation on quality spices," *Internacional Food Research Journal*, pp. 825-836, 2010.
- [2] K. Morehouse, "Food irradiation - US regulatory considerations," *Radiation Physics and Chemistry*, vol. 63, pp. 281-284, 2002.
- [3] E. Podgoršak, *Radiation Physics for Medical Physicists*, 2ª Edição ed., E. Greenbaum, Ed., Londres: Springer, 2010.
- [4] IAEA, *Radiation Biology: A Handbook for Teachers and Students*, 2010.
- [5] J. Turner, *Atoms, Radiation, and Radiation Protection*, Wiley-VCH, 2007.
- [6] J. Farkas e C. Mohácsi-Farkas, "History and future of food irradiation," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 22, pp. 121-126, 2011.
- [7] IAEA, *Dosimetry for Food Irradiation*, Vienna, 2002.
- [8] M. Grolichová, P. Dvořák e H. Musilová, "Employing Ionizing Radiation to Enhance Food Safety - a Review," *Acta Veterinaria Brno*, vol. 73, pp. 143-149, 2004.
- [9] WHO, *High-dose irradiation: wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy*, World Health Organization Technical Reports Series 890, 1994.
- [10] I. Arvanitoyannis, *Irradiation of Food Commodities*, Elsevier, 2010.
- [11] H. Mostafavi, H. Fathollahi, F. Motamedi e S. Mirmajlessi, "Food irradiation: Applications, public acceptance and global trade," *African Journal of Biotechnology*, vol. 9, pp. 2826-2833, 2010.
- [12] J. Farkas, *Irradiation of dry food ingredients*, CRC Press, 1988.
- [13] IAEA, *Trends in Radiation Sterilization of Health Care Products*, 2008.
- [14] J. Coggle, *Biological Effects of Radiation*, Londres: Taylor & Francis, 1983.
- [15] J. Diehl, "Food irradiation - past, present and future," *Radiation Physics and Chemistry*, pp. 211-215, 2002.
- [16] *Decreto-Lei nº 337/2001, Diário da República núm. 297, 1ª Série-A*, 26 de Dezembro de 2001.
- [17] E. Podyorsak, *Radiation Oncology Physics: A Handbook for Teachers and Students*, International Atomic Energy Agency, 2005.
- [18] S. Ahmed, *Physics and Engineering of Radiation Detection*, Elsevier, 2007.
- [19] F. Attix, *Introduction to Radiological Physics and Radiation Dosimetry*, John Wiley & Sons, 1986.
- [20] F. Salvat, J. Fernández-Varea e J. Sempau, "Penelope 2006: A Code System for Monte Carlo Simulation of Electron and Photon Transport," em *Workshop Proceedings, Barcelona, Spain*, 2006.
- [21] S.-Y. Lee, "Irradiation as a method for decontaminating food," *Internet Journal of Food Safety*, vol. 3, pp. 32-35, 2004.



- [22] J. Farkas, "Irradiation for better foods," *Trends in Food Science & Technology*, pp. 148-152, 2006.
- [23] J. Wolfram, R. Rogers e L. Gazso, *Microbial Degradation Processes in Radioactive Waste Repository and Nuclear Fuel Storage Areas*, NATO ASI Series, 1996.
- [24] L. Alpen, *Radiation Biophysics*, Academic Press, 1990.
- [25] G. Soares, P. Squair, F. Pinto, L. Belo e P. Grossi, "Assessment of dose rates in industrial gamma irradiation facilities using fricke and thermoluminescent dosimetric systems," em *Internacional Nuclear Atlantic Conference*, 2009.
- [26] B. Whittaker e M. Watts, "The influence of dose rate, ambient temperature and time on the radiation response of Harwell PMMA dosimeters," *Radiation Physics and Chemistry*, pp. 101-110, 2001.
- [27] S. Biramontri, N. Haneda, H. Tachibana e T. Kojima, "Effect of low irradiation temperature on the gamma-ray response of dyed and undyed pmma dosimeters," *Radiation Physics and Chemistry*, pp. 105-109, 1996.
- [28] A. Gava e C. F. J. Silva, *Tecnologia de Alimentos - Princípios e Aplicações*, Nobel, 2009.
- [29] M. Bourne, *Food Texture and Viscosity - Concept and Measurement*, Academic Press, 2002.
- [30] R. Carpenter, D. Lyon e T. Hasdell, *Guidelines for sensory analysis in food product development and quality control*, Aspen Publishers, 2000.
- [31] A. Szczesniak, "Texture is a sensory property," *Food Quality and Preference*, pp. 215-225, 2002.
- [32] J. Steffe, *Rheological Methods in Food Process Engineering*, Freeman Press, 1996.
- [33] W. Caine, J. Aalhus, D. Best, M. Dugan e L. Jeremiah, "Relationship of texture profile analysis and Warner-Bratzler shear force with sensory characteristics of beef rib steaks," *Meat Science*, pp. 333-339, 2003.
- [34] B. Gonçalves, A. M.-P. J. Silva, E. Rosa e A. S. Meyer, "Effect of ripeness and postharvest storage on the evolution of colour and anthocyanins in cherries (*Prunus avium* L.)," *Food Chemistry*, pp. 976-984, 2007.
- [35] V. Usenik, J. Fabčič e F. Štampar, "Sugars, organics acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.)," *Food Chemistry*, pp. 185-192, 2008.
- [36] M. Lima, *Análise Química e Física de Alimentos*, Santarém, 2012.
- [37] M. Génard e M. Souty, "Modeling the Peach Sugar Contents in Relation to Fruit Growth," *Journal of the American Society for Horticultural Science*, pp. 1122-1131, 1996.
- [38] D. Martínez-Romero, N. Alburquerque, J. Valverde, F. Guillén, S. Castillo, D. Valero e M. Serrano, "Postharvest sweet cherry quality and safety maintenance by Aloe vera treatment: A new edible coating," *Postharvest Biology and Technology*, pp. 93-100, 2006.
- [39] D. Ball, "Concentration Scales for Sugar Solutions," *Journal of Chemical Education*, pp. 1490-1491, 2006.
- [40] L. Magalhães, M. R. S. Segundo e J. Lima, "Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties," *Analytica Chimica Acta*, pp. 1-19, 2008.
- [41] L. Cheung, P. Cheung e V. Ooi, "Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts," *Food Chemistry*, pp. 249-255, 2002.
- [42] N. Gursoy, C. Sarikurkcu, M. Cengiz e M. Solak, "Antioxidant activities, metal contents, total phenolics and flavonoids of seven *Morchella* species," *Food and Chemical Toxicology*, pp. 2381-238, 2009.
- [43] A. Moure, J. Cruz, D. Franco, J. Domínguez, J. Sineiro, H. Domínguez, N. Núñez e J. Parajó, "Natural antioxidants from residual sources," *Food Chemistry*, vol. 72, pp. 145-171, 2001.
- [44] H. Zieliński e H. Kozłowska, "Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Cereal Grains and Their Different Morphological Fractions," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 48, pp. 2008-2016, 2000.
- [45] P. Stratil, B. Klejdus e V. Kubán, "Determination of phenolic compounds and their



- antioxidant activity in fruits and cereals," *Talanta*, pp. 1741-1751, 2007.
- [46] C. Stalikas, "Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids," *Journal of Separation Science*, pp. 3268-3295, 2007.
- [47] P. Garcia-Salas, A. Morales-Soto, A. Segura-Carretero e A. Fernández-Gutiérrez, "Phenolic-Compound - Extraction Systems dor Fruit and Vegetables Samples," *Molecules*, pp. 8813-8826, 2010.
- [48] M. Wettasinhe e F. Shahidi, "Evening Primrose Meal: A Source of Natural Antioxidants and Scavenger of Hydrogen Peroxide and Oxygen-Derived Free Radicals," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 47, pp. 1801-1812, 1999.
- [49] M. Soobrattee, V. Neergheen, A. Luximon-Ramma, O. Aruoma e T. Baborun, "Phenolics as potencial antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions," *Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, pp. 200-213, 2005.
- [50] I. Ignat, I. Volf e V. Popa, "A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables," *Food Chemistry*, pp. 1821-1835, 2011.
- [51] G. Campbell-Platt, *Food Science and Technology*, Wiley-Blackwell, 2009.
- [52] A. Belchior, M. Botelho e P. Vaz, "Monte Carlo simulations and dosimetric studies of an irradiation facility," *Nuclear Instruments & Methods in Physics Research*, pp. 70-72, 2007.
- [53] S. Ehrlich, "DNA cloning in *Bacillus subtilis*," *Proceedings of the Nacional Academy of Sciencs of the United States of America*, vol. 75, pp. 1433-1436, 1978.
- [54] E. Leifson, *Atlas of Bacterial Flagellation*, Academic Press, 1960.
- [55] C. Viva, "Métodos de quantificação de fitoplâncton," [Online]. Available: <http://www.cienciaviva.pt/rede/oceanos/1desafio/Cianobacterias%20-%20quantificacao.pdf>. [Acedido em 31 Agosto 2012].
- [56] K. Yilmaz, S. Ercisli, Y. Zengin, M. Sengul e E. Kafkas, "Preliminary characterisation of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes for their physico-chemical properties," *Food Chemistry*, vol. 114, pp. 408-412, 2009.
- [57] L. Magalhães, F. Santos, M. Segundo, S. Reis e J. Lima, "Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin-Ciocalteu reducing capacity," *Talanta*, vol. 83, pp. 441-447, 2010.
- [58] Huhtanen, *Gamma Radiation Resistance of Clostridium botulinum 62A and Bacillus subtilis in Honey*, 1991.
- [59] B. Gonçalves, A. Landbo, D. Knudsen, A. Silva, J. Moutinho-Pereira, E. Rosa e A. Meyer, "Effect of Ripeness and Postharvest Storage on the Phenolic Profiles of Cherries," *Journal of Agricultural and food chemistry*, vol. 52, pp. 523-530, 2004.
- [60] E. Vangdal e R. Slimestad, "Methods to determine antioxidative capacity in fruit," *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 2006.
- [61] M. Mitić, M. Obradović, D. Kostić, R. Micić e E. Pecev, "Polyphenol Content and Antioxidant Activity of Sour Cherries from Serbia," *Chemical Industry & Chemical Engineering Quartely*, vol. 18, pp. 53-62, 2012.

Anexos

A. Dosimetria de Fricke

Material

- ✓ 1 balão aferido de 50ml
- ✓ 2 balões aferidos de 2000ml
- ✓ Pipetas de vidro aferidas
- ✓ Gobelés
- ✓ Espátulas

Reagentes

- ✓ 45ml de H_2SO_4 para balão de 2000ml e 1,126ml para balão de 50ml
- ✓ 0,784g de $(SO_4)_2Fe(NH_4)_2, 6H_2O$
- ✓ 0,117g de NaCl
- ✓ H_2O desionizada

Procedimento

Solução ácido sulfúrico 0,4M

1. Adicionar os volumes respectivos de H_2SO_4 nos balões aferidos onde previamente foi adicionado H_2O desionizada (reação exotérmica) e completar volume após arrefecimento.

Solução de Fricke

1. Pesar rigorosamente as massas de 0,784g de $(SO_4)_2Fe(NH_4)_2, 6H_2O$ e de NaCl, Tapar com parafilme.
2. Dissolver os sais em 25ml de H_2SO_4 0,4M num balão de 2000ml. Após dissolução, perfazer o volume.
3. Saturar a solução durante 5 minutos com oxigénio.
4. Tapar o balão com papel de alumínio e armazenar a solução ao abrigo da luz.

B. Leitura dos dosímetros

Material

- ✓ 1 Tesoura
- ✓ 1 pinça

Equipamento

- ✓ Espectrofotômetro
- ✓ 1 micrómetro

Procedimento

1. Retirar o dosímetro do interior da embalagem com uma pinça.
2. Ler a absorvância do dosímetro num espectrofotômetro.
3. Medir a espessura do dosímetro com um micrómetro.

C. Contagens de colônias na câmara de Neubauer

Material

- ✓ Lamelas
- ✓ Micropipetas
- ✓ Câmara de Neubauer

Equipamento

- ✓ Microscópio

Procedimento

1. Colocar a lamela na câmara de Neubauer.
2. Tocar com a pipeta que contém a suspensão de células num dos lados da câmara, junto à lamela. Deixar sair a quantidade estritamente necessária para preencher por difusão o espaço de contagem, mas não deixar sair solução em excesso para não inutilizar a contagem.
3. Colocar a câmara no microscópio e deixar repousar a câmara no mínimo 3 minutos.
4. Contar as células usando o microscópio.
5. Calcular a concentração de células na suspensão fornecida (número de células contadas por unidade de volume).

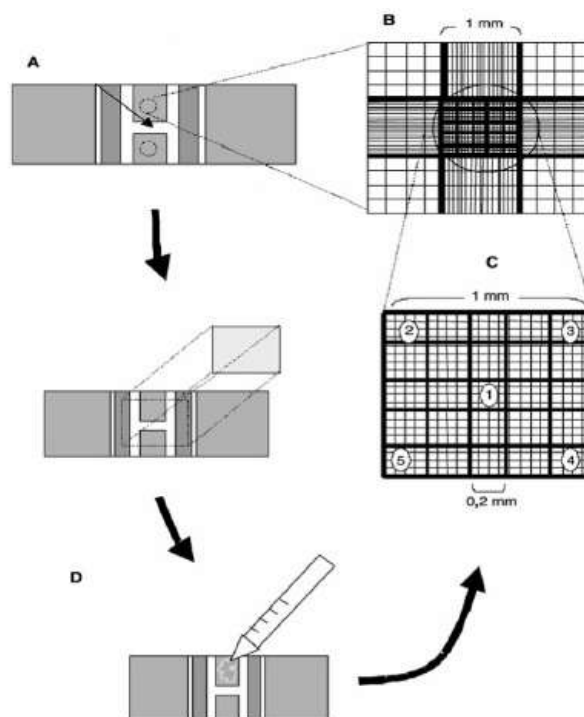


Figura A.1 - Esquema do procedimento para contagens numa câmara de Neubauer.

D. Caracterização morfológica

Coloração de gram

1. Preparar o esfregaço, secar e fixar (passar três vezes à chama).
2. Colorir com Cristal Violeta durante 1 minuto.
3. Lavar com água corrente, com cuidado, apenas alguns segundos.
4. Colorir com Lugol durante 1 minuto.
5. Lavar com água corrente, com cuidado, apenas alguns segundos.
6. Lavar com Álcool – Acetona (70:30) 3 vezes.
7. Lavar com água corrente, com cuidado, apenas alguns segundos.
8. Colorir com Safranina durante 1 minuto.
9. Lavar com água corrente, com cuidado, apenas alguns segundos.
10. Secar com papel Buvard ou junto ao bico de Bunsen e observar ao microscópio (x100 com óleo de imersão).

Gram +: azul/violeta; Gram -: rosa

Descolorante – 140 mL de álcool a 96 % e 60 mL de acetona

Catalase

1. Colocar uma gota de peróxido de hidrogénio a 3 % na tampa de uma placa.
2. Colocar a colónia em cima da gota.

Observação de gás nos microrganismos que têm actividade catalásica.

Reagente catalase – 3 % de H_2O_2 em H_2O

Oxidase

1. Colocar um filtro na placa.
2. Humedecer o filtro com reagente de oxidase.
3. Colocar as colónias em cima do papel e esfregá-las.
4. Esperar +/- 1 minuto.
5. Se ficar violeta escuro/azul forte é positivo, o que indica a presença da enzima citocromo oxidase.

Reagente oxidase – 0,1 g de N,N,N,N-tetrametil-1-4-diclorido de fenil diamónio + 10 mL H_2O

Caracterização Morfológica dos Isolados

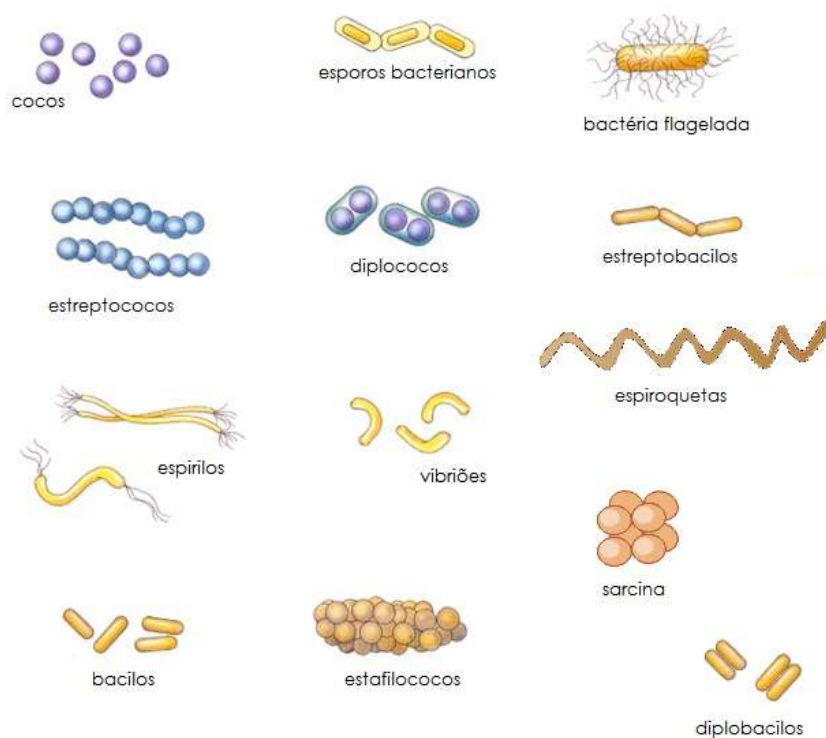


Figura A.2 – Classificação de bactérias.

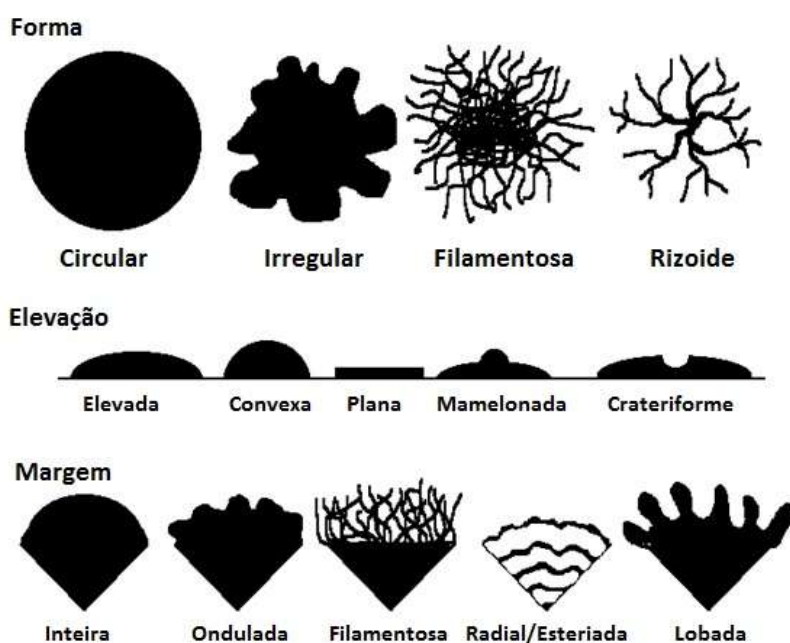


Figura A.3 – Caracterização morfológica de colônias.

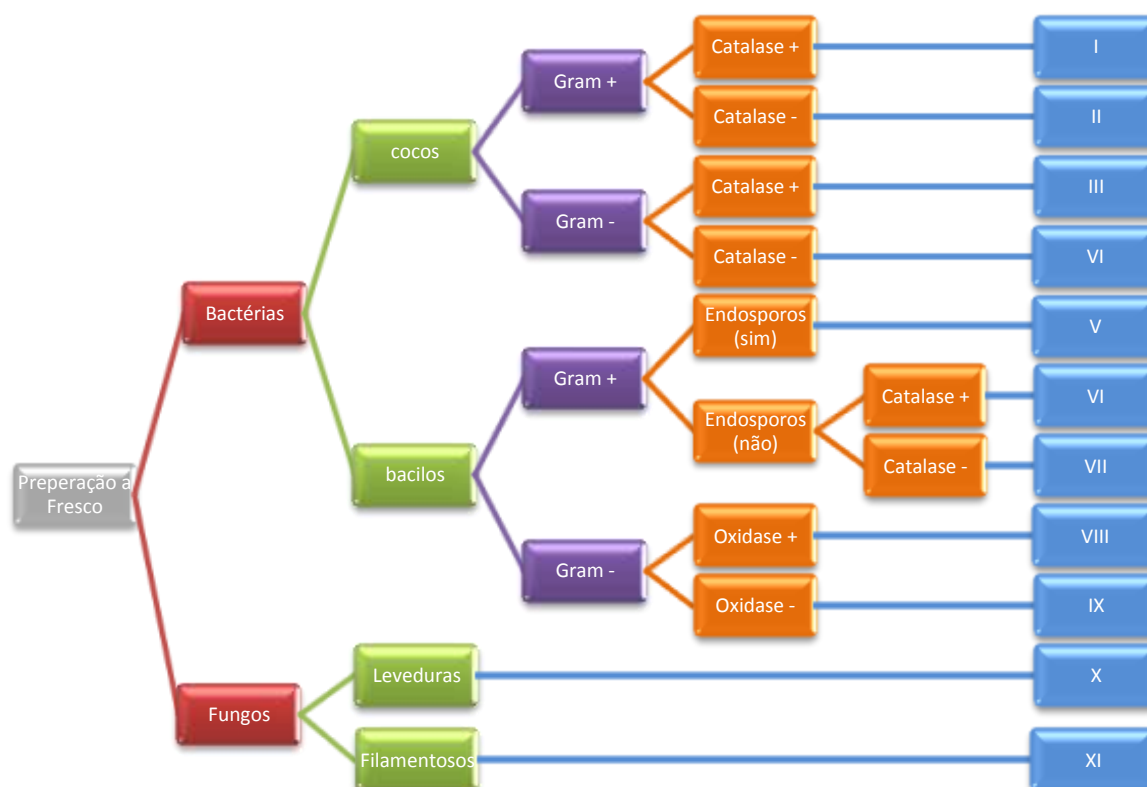


Figura A.4 – Tipificação dos microrganismos.

E. Avaliação da cor, textura e grau Brix

Procedimento experimental – Cor

Equipamento

- ✓ Computador com *software Spectramagic Nx*
- ✓ Colorímetro

Procedimento

1. Ligar o computador e o colorímetro e conectá-los;
2. Abrir *software Spectramagic Nx* e fazer *connecting* com o respectivo ícone;
3. No *File* abrir *New document* e escolher a modalidade *simple*;
4. Calibrar o equipamento com um azulejo de calibração branco, carregando no respetivo ícone *Calibration*;
5. No ícone *Data* escolher *Observe rand iluminant* e muda para 2°;
6. No ícone *Tools* colocar *edit mode*, seleccionar *pseudocolour*, colocar em baixo um rectângulo e tirar o modo de edição;
7. Medir a cor do padrão no ícone *Target*;
8. Medir a cor das amostras no ícone *Sample*.

Procedimento experimental – Textura

Equipamento

- ✓ Texturómetro Stevens QTS-25

Procedimento

1. Calibrar o texturómetro:
 - a) Ligar o texturómetro Stevens QTS 25;
 - b) Colocar a sonda Warner-Bratzler e na consola carregar nos botões *CONFIGURE* e de seguida *ENTER*;
 - c) Com o auxílio das teclas de direcção da consola, colocar a sonda ligeiramente acima da base e pressionar a tecla *ENTER*;
 - d) Carregar na tecla *SET ZERO*.
2. Programar a velocidade do texturómetro para 60mm/min;
3. Colocar o alimento na base do texturómetro;
4. Efectuar os ensaios pretendidos nas diferentes amostras;
5. Registrar as leituras.

Procedimento experimental – grau Brix

Material

- ✓ Gobelés
- ✓ Pipeta Pasteur
- ✓ Espátula

Equipamento

- ✓ Refractómetro

Procedimento

1. Limpar cuidadosamente as superfícies dos prismas do equipamento com papel embebido em álcool;
2. Calibrar o equipamento: Espalhar algumas gotas (3-4) de água destilada e fechar o dispositivo de suporte dos prismas. Depois de se iluminar o equipamento, fazer passar no ponto de cruzamento dos retículos do campo de visão da ocular do equipamento, a linha de separação das zonas iluminada e obscura. Por fim, ajusta-se a escala com a leitura $n_D^{20} = 1.333 \Leftrightarrow 0^\circ\text{B}$;
3. Esmagar com uma espátula a fruta de modo a obter sumo.
4. Fazer leituras das amostras a analisar: Espalhando algumas gotas (3-4) da amostra. Fechar o equipamento, iluminá-lo e fazer passar no ponto de cruzamento dos retículos do campo de visão da ocular do equipamento, a linha de separação das zonas iluminada e obscura. Após cada leitura os prismas devem ser sempre limpos com papel embebido em álcool.

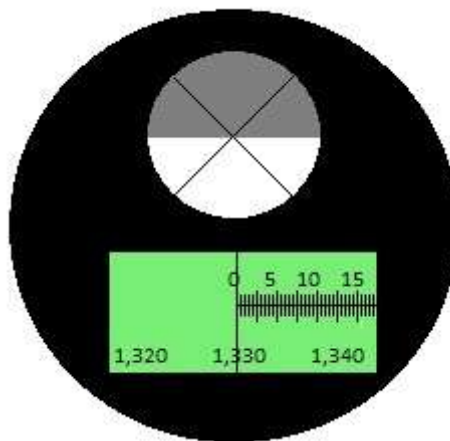


Figura A.5 – Calibração de um refractómetro de *Abbe*.

F. Capacidade Antioxidante

Procedimento Experimental – Poder antioxidante FRAP

Preparação das soluções

Tampão acetato (300 mM, pH 3,6)

Material

- ✓ Balão volumétrico 1000 mL
- ✓ Vidro de relógio
- ✓ Pipeta graduada 20 mL

Procedimento

1. Pesar 3,1 g de acetato de sódio ($C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$);
2. Dissolver num pequeno volume de água Milli-Q;
3. Adicionar 16 mL de ácido acético glacial ($C_2H_4O_2$);
4. Perfaz-se o volume com água Milli-Q e homogeneíza-se.

Nota: a solução deve ser armazenada a 4 °C.

Solução de HCL (40 mM)

Material

- ✓ Balão volumétrico 1000 mL
- ✓ Pipeta graduada 2 mL

Procedimento

1. Colocar um pequeno volume de água Milli-Q no balão volumétrico;
2. Adicionar 1,46 mL de HCL concentrado (11M);
3. Perfaz-se o volume com água Milli-Q e homogeneíza-se.

Solução de TPTZ (10 mM)

Material

- ✓ Pipeta graduada 10 mL
- ✓ Vidro de relógio

Procedimento

1. Pesar 0,031 g de TPTZ (2,4,6-Tris[2-pyridyl]-s-triazine);
2. Adicionar 10 mL de HCL (40 mM);
3. Dissolver em banho-maria a 50 °C;

Nota: a solução deve ser feita a cada dia de trabalho.

Curva de calibração

1. Pipetar 100 µL da solução padrão para um tubo;
2. Adicionar 3 mL da solução de FRAP;
3. Incubar a 37 °C durante 15 minutos;
4. Ler no espectrofotômetro a 593 nm contra água.

Determinação do poder antioxidante total

1. Preparar as diluições necessárias das amostras em estudo;
2. Pipetar 100 µL da amostra para um tubo;
3. Adicionar 3 mL da solução de FRAP;
4. Incubar a 37 °C durante 15 minutos;
5. Ler no espectrofotômetro a 593 nm contra água.

Procedimento Experimental – Fenólicos totais**Preparação das soluções**Solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3)**Material**

- ✓ Erlenmeyer 50 mL
- ✓ Balão volumétrico 50 mL
- ✓ Proveta 50 mL
- ✓ Funil

Procedimento

1. Pesar 10 g de carbonato de sódio;
2. Adicionar 40 mL de água bi-destillada;
3. Levar a solução à fervura;
4. Deixa-se arrefecer e transfere-se para o balão volumétrico;
5. Adicionar alguns cristais de carbonato de sódio;
6. Deixar repousar 24 h;
7. Filtrar, perfazer o volume e homogeneizar.

Curva de calibração

1. Pipetar 20 µL da concentração pretendida;
2. Adicionar 1,58 mL de água;
3. Adicionar 100 µL do reagente Folin-Ciocalteu 2N;

4. Homogeneizar;
5. Esperar 5 minutos;
6. Adicionar 300 μL de carbonato de sódio;
7. Homogeneizar;
8. Deixar a solução a 20 °C durante 2h;
9. Ler a absorvância a 765 nm contra branco (20 μL de água).

Amostras

1. Pipetar 20 μL de amostra;
2. Adicionar 1,58 mL de água;
3. Adicionar 100 μL do reagente Folin-Ciocalteu;
4. Homogeneizar;
5. Esperar entre 5 minutos;
6. Adicionar 300 μL de carbonato de sódio;
7. Homogeneizar;
8. Deixar a solução a 20 °C durante 2h;
9. Ler a absorvância a 765 nm contra branco (20 μL de água).

G. Análise Sensorial

Teste de aceitabilidade – Bolachas Oreo®

Teste de aceitabilidade

Nome _____

Data: ____/____/____

Avalie cada uma das amostras codificadas e use a escala abaixo para indicar o quanto gostou ou desgostou de cada amostra.

- 1- Muito desagradável
- 2- Desagradável
- 3- Indiferente
- 4- Agradável
- 5- Muito agradável

XXX	1	2	3	4	5
Cor bolacha					
Cor recheio					
Odor					
Sabor					
Doce					
Crocante					
Rigidez					
Intenção de compra					

XXX	1	2	3	4	5
Cor bolacha					
Cor recheio					
Odor					
Sabor					
Doce					
Crocante					
Rigidez					
Intenção de compra					

XXX	1	2	3	4	5
Cor bolacha					
Cor recheio					
Odor					
Sabor					
Doce					
Crocante					
Rigidez					
Intenção de compra					

XXX	1	2	3	4	5
Cor bolacha					
Cor recheio					
Odor					
Sabor					
Doce					
Crocante					
Rigidez					
Intenção de compra					

Comentários: _____

Teste de Aceitabilidade – Cerejas**Teste de aceitabilidade**

Nome _____

Data: ____/____/____

Avalie cada uma das amostras codificadas e use a escala abaixo para indicar o quanto gostou ou desgostou de cada amostra.

- 1- Muito desagradável
- 2- Desagradável
- 3- Indiferente
- 4- Agradável
- 5- Muito agradável

NOTA – Para a cor, considere 5 para uma cor mais escura e 1 menos escura.

XXX	1	2	3	4	5
Cor					
Odor					
Sabor					
Textura					
Fracturabilidad e (pele)					
Dureza					
Doce					
Áspero					
Elasticidade					
Prod, Maneira geral					

XXX	1	2	3	4	5
Cor					
Odor					
Sabor					
Textura					
Fracturabilidad e (pele)					
Dureza					
Doce					
Áspero					
Elasticidade					
Prod, Maneira geral					

XXX	1	2	3	4	5
Cor					
Odor					
Sabor					
Textura					
Fracturabilidad e (pele)					
Dureza					
Doce					
Áspero					
Elasticidade					
Prod, Maneira geral					

XXX	1	2	3	4	5
Cor					
Odor					
Sabor					
Textura					
Fracturabilidad e (pele)					
Dureza					
Doce					
Áspero					
Elasticidade					
Prod, Maneira geral					

H. Lista de alimentos proibidos e permitidos a consumo para pacientes do IPO de Lisboa

Os alimentos comprados no supermercado e que são dados directamente ao paciente sem qualquer tratamento são analisados anteriormente no Instituto Ricardo Jorge.

Alimentos comprados no supermercado:

- Cereais
- Sumos UHT (ex: Ice tea e compais)
- Leites UHT
- Coca-Cola (lata)
- Nestum e Cerelac (embalagens metálicas)
- Manteigas em dose individual
- Iogurtes líquidos e sólidos (ex: Actimel)
- Gelados (calipos)
- Belgas
- Água luso (engarrafada)
- Nescafé
- Açúcar canderel

Os pacientes podem escolher a ementa que desejam por uma lista entregue no dia anterior. Os alimentos são descongelados em microondas e confeccionados numa cozinha normal. Após a confecção, as refeições são colocadas nos pratos numa cozinha específica, onde cada prato é colocado dentro de dois sacos (colocados em sentidos opostos) e levado à panela de pressão (25min).

São levados também à panela de pressão os seguintes alimentos:

- Hóstias
- Batatas fritas
- Pão torrado
- Pão fatiado
- Bolo (pão de ló)
- Gelatina
- Arroz doce (sem canela)
- Sopas

As refeições chegam às enfermarias em carros de transportes de quentes a uma temperatura aproximada de 80°C.

É permitido ao paciente comer as seguintes frutas:

- Maçã assada
- Pera cozida
- Pêssego e ananás em calda
- Banana (2 a 3 dias antes da alta)

São proibidos ao paciente os seguintes alimentos:

- Saladas
- Queijo

- Frutos secos
- Bolachas com recheio
- Chocolates
- Cremes
- Enchidos

I. Brochuras

Brochura para médicos



A irradiação de alimentos já é aplicada a nível comercial em mais de 60 países devido às suas inúmeras vantagens.

Vantagens:

- Aumento da vida útil/validade do alimento;
- Sem alteração no valor nutricional do alimento;
- Diminuição do desperdício dos alimentos;
- Elevado poder de penetração. É possível irradiar vários tamanhos e formas;
- Ausência de resíduos nos alimentos;
- Energia limpa;
- Irradiação é possível em produtos já embalados.

H Um passo no futuro será a implementação destes alimentos nas refeições de imunodeprimidos por forma a aumentar a variedade de refeições, pois muitos pacientes ficam sujeitos a

dietas restritas podendo afetar o seu estado de espírito e a qualidade de vida.

Trabalho desenvolvido no Instituto Tecnológico e Nuclear.



Para mais informações:

- sandracv@itn.pt
- joanaper7@itn.pt



Instituto Tecnológico e Nuclear,

Instituto Superior Técnico,

Universidade Técnica de Lisboa



Irradiação de Alimentos



Radiação

A radiação é a propagação da energia proveniente de uma fonte natural ou artificial e que tem a capacidade de penetrar em diversos materiais.

Consoante a sua capacidade de ionizar a matéria, a radiação classifica-se em **ionizante** e **não ionizante**. A radiação ionizante, capaz de ionizar a matéria, provém de átomos instáveis (com excesso de energia), que para atingir a estabilidade emitem energia sobre a forma de radiação.

Fontes de radiação ionizante:

- Fontes radioativas (cobalto-60 ou célio-37);
- Feixe de eletrões;
- Raios X.

Irradiação de Alimentos



Tecnologia que visa a exposição do alimento a uma determinada dose de radiação com o objetivo de inativar microrganismos neles presentes. O alimento fica mais

seguro para consumo e o seu valor nutricional não sofre alterações.

A irradiação de alimentos é um processo com objetivos semelhantes ao tratamento por temperatura (cozedura e congelamento). Para este processo é geralmente usada uma fonte radioativa de cobalto 60. De modo geral, a radiação quando absorvida pelo alimento provoca alterações nas estruturas moleculares dos microrganismos. Os ciclos celulares são interrompidos e a maioria dos organismos celulares ficam inativos.

Efeitos da radiação no alimento:

- **Directos** – A radiação interage directamente com o ADN, provocando reações físicas e químicas que causam danos biológicos.
- **Indirectos** – Formação de radicais livres resultantes da radiólise da água. Os radicais são altamente radioactivos, e quando entram em contacto com as estruturas biológicas causam danos irreversíveis.

Radurização (até 1kGy) – Desinfestação de insetos, inactivação de parasitas, retardamento da maturação.

Radicação (1 a 10kGy) – Redução do número de microrganismos responsáveis pela deterioração dos alimentos (aumento do tempo de vida útil), inativação dos microrganismos potencialmente patogénicos.

Radapertização (superior a 10kGy) – Redução do número total de microrganismos para garantir a esterilização.



Após 15 dias de armazenamento são visíveis as diferenças entre os morangos irradiados e não-irradiados.

Assim, com este tratamento é possível não só aumentar a validade de certos alimentos bem como torná-los mais seguros através da inactivação de microrganismos, sem induzir radioactividade no alimento.

Aplicações:

- Esterilização de alimentos;
- Conservação de alimentos;
- Redução da carga microbiana;

Brochura para pacientes e familiares



A irradiação de alimentos já é aplicada a nível comercial em mais de 60 países devido às suas inúmeras vantagens.

Vantagens:

- Aumento da vida útil/validade do alimento;
- Sem alteração no valor nutricional do alimento;
- Diminuição do desperdício dos alimentos;
- Elevado poder de penetração. É possível irradiar vários tamanhos e formas;
- Ausência de resíduos nos alimentos;
- Energia limpa;
- Irradiação é possível em produtos já embalados.

H Um passo no futuro será a implementação destes alimentos nas refeições de imunodeprimidos por forma a aumentar a variedade de refeições, pois muitos pacientes ficam sujeitos a dietas restritas podendo afectar o seu estado de espírito e a qualidade de vida.

Instituto Tecnológico e Nuclear,
Instituto Superior Técnico,
Universidade Técnica de Lisboa

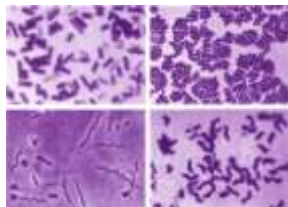


Irradiação de alimentos



Microrganismos

Organismos celulares
responsáveis pela
degradação dos
alimentos. Como
exemplo temos as
bactérias e os fungos.



Radiação

A radiação é a propagação da energia proveniente de uma fonte natural ou artificial capaz de penetrar em diversos materiais. Na irradiação de alimentos é geralmente usada uma fonte artificial de cobalto 60 que emite a energia a ser absorvida pelo alimento

Irradiação de alimentos

Tecnologia que visa a exposição do alimento a uma determinada dose de radiação com o objectivo de inactivar microrganismos neles presentes. O alimento fica mais seguro para consumo e o seu valor nutricional não sofre alterações.

É uma tecnologia com fins semelhantes à cozedura ou ao congelamento de alimentos.

A radiação é depositada no alimento, provocando alterações nas estruturas moleculares dos microrganismos. Os ciclos celulares são interrompidos e a maioria dos organismos celulares ficam inactivos.

O nível de radiação é variável consoante o tipo de alimento e o resultado que se pretende. Os alimentos podem ser irradiados na sua embalagem final tornando possível prevenir o produto de contaminação e não afectando o resultado final.



Após 15 dias de armazenamento são visíveis as diferenças entre os morangos irradiados e não-irradiados.

Assim, com este tratamento é possível não só aumentar a validade de certos alimentos bem como torná-los mais seguros através da inactivação de microrganismos.

Aplicações:

- Esterilização de alimentos;
- Conservação de alimentos;
- Redução da carga microbiana;